

INTRAZELLULÄRE
ELEKTROLYTKONZENTRATIONEN IN
NIERENTUBULUSZELLEN VON
DOCA-HOCHDRUCKRATTEN.
EINE UNTERSUCHUNG MITTELS DER
ELEKTRONENSTRAHL-MIKROANALYSE

Mathias Maximilian Borst

Diss
München
1966



Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Klaus Thureau

Prof. Dr. med. Hans Gerrit ten Bruggencate

Prof. Dr. med. Eckehart Gerlach

INTRAZELLULÄRE ELEKTROLYTKONZENTRATIONEN IN NIERENTUBULUSZELLEN
VON DOCA-HOCHDRUCKRATTEN. EINE UNTERSUCHUNG MITTELS DER
ELEKTRONENSTRAHL-MIKROANALYSE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München
vorgelegt von

Mathias Maximilian Borst

aus

München

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Klaus Thureau

Dekan: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Februar 1986

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	1
B. THEORETISCHES	2
C. VERGLEICHENDE PSYCHOLOGIE UND LERNTHEORIEN	3
1. Theorie des Approximierens	4
2. Veranschaulichung und Simulation	5
3. Induktive Approximation	6
a) Beispiele	7
b) Psychologische Grundlagen	8
4. Konstruktive Approximation	9
5. Induktion und Approximation	10
a) Approximationen von	11
meinen lieben Eltern	12
b) Individuelle Approximationen	13
c) Approximationen von Gruppen	14
d) Approximationen	15
112. Approximationen von Gruppen	16
a) Gruppen	17
b) Gefühle	18
a) Approximationen	19
b) Approximationen	20

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. INHALTSÜBERSICHT	3
C. PROBLEMDISKUSSION UND LITERATURÜBERSICHT	4
I. Formen der Hypertonie	4
1. Definition und Einteilung	4
2. Essentielle Hypertonie	4
a) Ätiologie	4
b) Pathophysiologische Merkmale	5
3. Mineralokortikoid-induzierter Hochdruck	6
II. Kochsalz und Hypertonie	9
1. Epidemiologische Untersuchungen	9
2. Individuelle Salzempfindlichkeit	10
3. Klinische Untersuchungen	10
4. Tierexperiment	11
III. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen	12
1. Methoden	12
2. Befunde	13
a) Blutkörperchen	13
b) Blutgefäße	17

IV. Membrantransport und Hypertonie	19
1. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe	19
2. Andere Transportsysteme	25
a) Passive Ionenflüsse	27
b) $\text{Na}^+ - \text{Na}^+$ -Gegentransport	28
c) $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Kotransport	30
3. Natriuretisches Hormon	33
a) Natriumzufuhr	33
b) Genetischer Defekt an der Niere	34
c) Expansion des Extrazellulärraumes	34
d) Darstellung natriuretischwirksamer Substanzen	35
e) Digitalis-artige Wirkung	35
f) Wirkung auf die Gefäßmuskelzelle	36
D. METHODIK	38
I. Beschreibung der Experimente	38
1. Material	38
2. Präparation	39
II. Probengewinnung	42
1. Auftragen des Standards	42
2. Nierenentnahme	43
3. Schockgefrieren	44
III. Probenaufbereitung	46

1. Kryomikrotomie	46
2. Gefriertrocknung	47
IV. Elektronenstrahl-Mikroanalyse	48
1. Prinzip	48
2. Analyse der Gewebsschnitte	50
3. Auswertung der Impulshöhenspektren	51
4. Quantifikation	52
V. Chemische Analysen	53
VI. Histologie	54
VII. Statistik	54
E. ERGEBNISSE	56
I. Morphologie und Funktion	56
1. Blutdruck und Körpergewicht	56
2. Morphologie und Funktion der Nieren	57
3. Plasma-Analysen	61
II. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen	63
1. Natrium	63
2. Kalium	65
3. Chlorid	65

4. Phosphor	65
5. Trockengewicht	67
6. Abhängigkeit der Ergebnisse voneinander	67
 F. DISKUSSION	 69
I. Morphologie und funktionelle Veränderungen	69
1. Blutdruckentwicklung und Körpergewicht	69
2. Morphologie der Nieren	70
3. Nierenfunktion	71
a) Glomeruläre Filtrationsrate	71
b) Exkretorische Funktion	72
4. Plasma-Elektrolytkonzentrationen	73
a) Plasma-Kalium- und -Chloridkonzentration	73
b) Plasma-Natriumkonzentration	74
 II. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen	 76
1. Vergleichbarkeit der Ergebnisse	76
a) Chemische Methoden	77
b) Ionenselektive Elektroden	78
c) Elektronenstrahl-Mikroanalyse	80
2. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen bei arterieller Hypertonie	82
3. Ionentransportsysteme	87
a) Na^+ - K^+ -Pumpe und Permeabilität	87
b) Natriuretischer Faktor	89
c) Na^+ - Na^+ -Gegentransport	91

4. Hypokaliämie	93
5. Schrumpfung	96
6. Chloridkonzentration	97
G. ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	99
H. LITERATURVERZEICHNIS	103
I. LEBENSLAUF DES DOKTORANDEN	124

A. EINLEITUNG

Die bedrohlichen Folgeerkrankungen, der symptomarme Verlauf und vor allem die ungeklärte Ätiologie der Hochdruckkrankheit werfen zahlreiche Probleme auf. Epidemiologische, klinische und experimentelle Befunde sprechen für die Ansicht, daß bei einer Vielzahl von Hypertonieformen der Kochsalzhaushalt des Organismus verändert ist. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Funktion der Niere, die den NaCl-Bestand des Körpers durch Veränderung der Ausscheidung einstellt (14, 15, 71). In Experimenten, bei denen Nieren spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Kontrolltiere transplantiert wurden, entwickelten diese ebenfalls einen Bluthochdruck (14, 15). Versuchspersonen mit genetischer Veranlagung zu essentieller Hypertonie zeigen signifikante Abweichungen der Nierenfunktion (15).

Genetisch bedingte oder exogen verursachte Störungen der renalen Natriumexkretion als Auslöser für die Entstehung der arteriellen Hypertonie (23, 126) sollten sich auch in einem veränderten Elektrolythaushalt der Tubuluszelle widerspiegeln. Dabei drücken sich Änderungen im transepithelialen Ionentransport in der Regel in veränderten intrazellulären Elektrolytkonzentrationen aus (10, 130).

Thema der vorliegenden Arbeit ist daher die Frage, ob sich bei arterieller Hypertonie Änderungen der Elektrolytkonzentrationen in den Zellen des Nierentubulus nachweisen lassen.



Als experimentelles Modell diente der durch DOCA und Kochsalz induzierte Hochdruck der Ratte. Die Untersuchungen wurden mittels der Elektronenstrahl-Mikroanalyse an gefriergetrockneten Kryoschnitten vom Nierenkortex durchgeführt und mit Befunden an anderen Modellen und Geweben verglichen.

Man hat bei verschiedenen Zelltypen und unterschiedlichen Hypertonieformen eine Zunahme der intrazellulären Natriumkonzentration und Änderungen des membranalen Natriumtransportes beobachtet. Eine Hemmung der membranständigen $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe und der damit verbundene Anstieg der zellulären Natriumkonzentration sollen die Ursache für einen erhöhten Gefäßtonus sein (16, 19). Im Hinblick auf die Frage, ob die arterielle Hypertonie nicht überhaupt mit einer generalisierten Störung des zellulären Elektrolythaushaltes einhergehe (57, 167), sind die Nierenbefunde eigenen Untersuchungen an der Leber und verschiedenen Arbeiten aus der Literatur gegenübergestellt.

B. INHALTSÜBERSICHT

Dem methodischen Teil und den Ergebnissen ist eine einführende Literaturübersicht vorangestellt. Darin sind zunächst einige pathophysiologische Daten über die essentielle und die Mineralokortikoid-induzierte Hypertonie des Menschen sowie über entsprechende Tiermodelle dargestellt. Es folgt eine Übersicht über die Beziehungen zwischen Kochsalz und Bluthochdruck. In einem dritten Teilabschnitt ist eine kurze Darstellung über die Veränderungen der Elektrolytkonzentrationen in Körpergeweben enthalten. Schließlich folgen eine Literaturübersicht über ausgewählte Kationentransportsysteme und die Diskussion ihrer möglichen Rolle bei der Pathogenese der Hypertonie.

Im methodischen Kapitel wird die in der vorliegenden Arbeit verwandte Technik, die Elektronenstrahl-Mikroanalyse, dargestellt und diskutiert.

Die Ergebnisse dieser Arbeit werden im anschließenden Abschnitt vorgestellt und in einem weiteren Kapitel diskutiert. Dabei sollen die Resultate auf ihre Aussagekraft und Vergleichbarkeit hin überprüft und in Bezug zu den in der Literaturübersicht besprochenen Befunden und Hypothesen gestellt werden. Am Ende der Arbeit steht eine Zusammenfassung der Ergebnisse und der daraus zu ziehenden Folgerungen.

C. PROBLEMDISKUSSION UND LITERATURÜBERSICHT

I. Formen der Hypertonie

1. Definition und Einteilung

Nach der Definition der WHO gilt ein erwachsener Patient als Hypertoniker, wenn bei ihm ein Blutdruck von mehr als 160/95 mm Hg im Sitzen oder Liegen gemessen wurde (183). Mit Hilfe klinischer Kriterien lassen sich außerdem verschiedene Schweregrade der Hypertonie einteilen (105). Eine Klassifikation nach ätiologischen Gesichtspunkten grenzt die primäre oder essentielle Hypertonie von sekundären oder symptomatischen Formen ab. Lassen sich keine organischen, endokrinen, neurogenen, zirkulatorischen oder anderen definierten Ursachen nachweisen, so muß die Diagnose einer essentiellen Hypertonie per exclusionem gestellt werden. Mindestens 85 % der Hypertoniker fallen in diese Gruppe (105).

2. Essentielle Hypertonie

a) Ätiologie. Zwillingsstudien und epidemiologische Untersuchungen sprechen für eine erbliche Disposition, an essentieller Hypertonie zu erkranken, wobei eine polygenetische Vererbung im Sinne eines quantitativen Merkmals angenommen wird (147). Experimentell ließen sich verschiedene Stämme spontan hypertensiver Ratten züchten (70), von denen z.B. SHR, MHS unterschieden werden (140).

Auch Faktoren wie das soziale Umfeld, psychischer Stress, Geschlecht, Alter, Adipositas und Kochsalzzufuhr spielen eine Rolle. Die Frage ist ungeklärt, inwieweit diese Einflüsse eine ätiologische Bedeutung haben (112).

b) Pathophysiologische Merkmale. Plasmavolumen, extrazelluläres Volumen sowie austauschbares Natrium und Kalium bei unkomplizierter essentieller Hypertonie unterscheiden sich praktisch nicht von Kontrollwerten (159). Dies gilt auch für das Herzzeitvolumen (78). Dagegen weisen fast alle Patienten mit essentieller Hypertonie einen deutlich erhöhten peripheren Gefäßwiderstand auf, der für den Anstieg des arteriellen Blutdruckes verantwortlich gemacht wird (78, 86). Diese Tatsache kann, da die Plasma-Renin-Spiegel nicht erhöht sind, nicht auf eine Überaktivität des Renin-Angiotensin-Systems zurückgeführt werden (86). Vielmehr ließ sich von verschiedenen Autoren eine gesteigerte Reaktivität der Gefäßwand auf vasokonstriktische Reize (z.B. Noradrenalin-Infusion) in der peripheren Strombahn nachweisen. Dies Phänomen kann zum Teil Folge einer Verdickung der tunica media, also der kontraktilen Wandschicht der Widerstandsgefäße, sein; neben dieser strukturellen, geometrischen Komponente spricht viel für eine eigentliche Steigerung der Kontraktilität oder eine Hypersensitivität der Muskulatur des peripheren Gefäßbettes auf vasokonstriktische Reize. Arterienstreifen von spontan hypertensiven Ratten zeigen ebenfalls eine solche Hyperreaktivität (20, 77).

Bei etwa 10 bis 30 % aller essentieller Hypertoniker ließen sich erniedrigte Plasma-Renin-Spiegel nachweisen, wie sie auch bei Zuständen mineralokortikoidbedingter Volumenexpansion vorkommen. Eine definierte Untergruppe innerhalb der essentiellen Hypertoniker war damit jedoch nicht abgrenzbar. Eine Vermehrung des Plasmavolumens, des extrazellulären Raumes und des austauschbaren Natriums, wie sie als Folge erhöhter Mineralokortikoidzufuhr (z.B. beim primären Hyperaldosteronismus) mit der Erhöhung des Blutdruckes einhergeht (35), konnte bei der essentiellen Hypertonie mit erniedrigten Plasma-Renin-Aktivitäten nicht nachgewiesen werden (60).

Auch bei spontan hypertensiven Ratten wurde bei normaler Aldosteron-Aktivität im Plasma und normalem Extrazellulärvolumen und austauschbaren Natrium ein erniedrigter Plasma-Renin-Spiegel gemessen.

3. Mineralokortikoid-induzierter Hochdruck

Das typische Beispiel für eine sekundäre Form der Hypertonie ist der primäre Hyperaldosteronismus (M. CONN) mit seinem klassischen pathologisch-anatomischen Substrat, dem Nebennierenrindenadenom. Es kommt dabei zur exzessiven autonomen Ausschüttung von Aldosteron, zur Wasser- und Natriumretention, zur Hypokaliämie und zum Blutdruckanstieg (38, 119).

Seit 1942 ist bekannt, daß die Gabe von Mineralokortikoiden

im Tierexperiment den arteriellen Blutdruck erhöht (161), ein Effekt, der durch die Zumischung von Kochsalz zum Trinkwasser noch deutlich verstärkt wird (162). Einseitig nephrektomierte Tiere sind für diese Behandlung noch empfindlicher (33). Hypertensive Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus zeigen eine leichte Hypernatriämie, eine ebenfalls leichte Erhöhung der Serumsmolalität und eine signifikante Vergrößerung des Extrazellulärvolumens. Einem deutlichen Anstieg des austauschbaren Natriums steht ein signifikanter Abfall des austauschbaren Kaliums gegenüber (35).

Das Herzzeitvolumen ist bei primärem Hyperaldosteronismus und experimentell erzeugtem Mineralokortikoid-Hochdruck normal, während der periphere Widerstand deutlich erhöht ist (86, 159). Bei unkomplizierten Formen liegt der Plasma-Renin-Spiegel unter dem Normalwert (39), so daß der Mineralokortikoid-Hochdruck als eine Form der "low-renin hypertension" angesehen werden kann (40).

Wurde die Spironolacton-Behandlung von Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus unterbrochen, so stieg der Blutdruck wieder an. Man beobachtete, daß die Blutdruckerhöhung bei normaler Kochsalzzufuhr von einem deutlichen Anstieg des Plasmavolumens und des austauschbaren Natriums begleitet war; während der Blutdruck sich stabilisierte, fielen diese Parameter nach zwei Wochen wieder ab. Auch die Natriumbilanz war nur vorübergehend positiv (86). Die Tatsache, daß die Zunahme des Extrazellulärvolumens und die

Natriumretention nur passager sind, wird als "escape"-Phänomen bezeichnet. Die Hypokaliämie und die Hypertonie sind von diesem Phänomen nicht betroffen.

Junge Schweine, denen Desoxycorticosteron verabreicht wurde, zeigten neben einem Abfall der Plasma-Renin- und -Aldosteron-Aktivitäten zunächst für etwa 2 bis 3 Tage eine stark positive Natrium- und Wasserbilanz. Bei unveränderter Serum-Natriumkonzentration fiel die Natriumexkretion ab. Es wurde eine isotone Volumenzunahme um ca. 11 % des Extrazellulärvolumens kalkuliert. Nach 7 Tagen waren die Natrium- und Wasserbilanzen trotz zunehmender Trinkmenge bei wachsender Diurese wieder ausgeglichen. Der Serum-Kalium-Spiegel sank unter die Kontrollwerte ab. Der mittlere arterielle Blutdruck stieg von Anfang an und stabilisierte sich ab dem 10. Tag 40 % über dem der Kontrollgruppe (84).

Da man bei Ratten durch die Gabe von Desoxycorticosteron und Kochsalz, mit oder ohne einseitige Nephrektomie, rasch und sicher einen stabilen Bluthochdruck setzen kann, wurden viele Untersuchungen zur Pathophysiologie des Mineralokortikoid-Hochdruckes und zur Ätiologie der Hypertonie überhaupt an diesen Tieren durchgeführt (33). Auch bei ihnen kommt es dabei zu einer Zunahme des austauschbaren Natriums Na_e^+ (132).

II. Kochsalz und Hypertonie

Die wissenschaftliche Literatur ist reich an Arbeiten, die sich mit einem möglichen Zusammenhang zwischen Kochsalzzufuhr und der Entstehung der arteriellen Hypertonie befassen (171). Epidemiologische Erhebungen an Populationen mit unterschiedlicher Kochsalzzufuhr, Studien an Individuen unter verschiedener NaCl-Belastung, Untersuchungen über die Wirkung einer Kochsalzeinschränkung und von Saluretikagabe sowie das Tierexperiment bilden die Grundlage für Aussagen und Hypothesen in der kontroversen Diskussion über die "Toxizität des Salzes" (5).

1. Epidemiologische Untersuchungen

Anders als in zivilisierten Ländern mit einer hohen Inzidenz der essentiellen Hypertonie und mit mit dem Lebensalter steigenden durchschnittlichen Blutdruckwerten fand man in verschiedenen "primitiven" Populationen keinen altersabhängigen Blutdruckanstieg und nur selten essentielle Hypertoniker. Parallel hierzu stellte man fest, daß solche Populationen pro Kopf sehr viel weniger Kochsalz verzehren, als in industrialisierten Ländern, wo der Natriumgehalt der Speisen größer ist (43).

2. Individuelle Salzempfindlichkeit

Innerhalb von Populationen besteht dagegen kein Zusammenhang zwischen Kochsalzzufuhr und arteriellen Blutdruckwerten. Eine Erklärung dafür könnte sein, daß eine erhöhte Natriumzufuhr für die Auslösung, aber nicht für die Aufrechterhaltung der Hypertonie verantwortlich ist. Vor allem aber spricht viel dafür, daß Individuen unterschiedlich empfindlich für eine hypertensive Wirkung des Kochsalzes sind, etwa aufgrund einer bestimmten genetischen Disposition, wie sie für die essentielle Hypertonie des Menschen angenommen wird. DAHL hat als vergleichbares Tiermodell zwei Rattenstämme gezüchtet, die als Salz-resistent und als Salz-sensitiv bezeichnet werden. Unter einer immerhin 8 % Kochsalz enthaltenden Diät kommt es bei letzterem unweigerlich zur Hypertonie (44).

Wenn also nur jene Menschen eine Kochsalz-induzierte Hypertonie unter exzessiver Natriumzufuhr aufweisen (5), die genetisch dazu vorbestimmt sind, so bleibt zu klären, durch welchen Mechanismus sich der zugrundeliegende Defekt manifestiert.

3. Klinische Untersuchungen

Ebenso wie die Individuen unterschiedlich auf ein NaCl-Überangebot reagieren, so wirkt sich auch eine Kochsalz-restriktion unterschiedlich aus.

Seit der Einführung der KEMPNERschen Reis-Obst-Diät (107) ist bekannt, daß extrem Kochsalz-arme Kost bei essentiellen Hypertonikern zu einer Blutdrucksenkung führen kann. Bei einer - für den Patienten äußerst belastenden - Einschränkung der täglichen NaCl-Zufuhr auf unter 10 mmol sinken das Volumen von Plasma- und Extrazellulärraum um 10 bis 15 % ab. Erst dann fällt der arterielle Blutdruck ab, und zwar auch bei Normotonikern (74, 148). Ein ähnlicher Effekt wird auch durch die Gabe von Diuretika erzielt, die seit über 20 Jahren einen festen Platz in der Therapie der Hypertonie innehaben. Aufgrund unterschiedlicher Wirkungsmechanismen führen sie zu kurzfristig negativen Natrium- und Wasserbilanzen und zu einem langfristigen Abfall des arteriellen Blutdrucks (139).

Nicht alle Patienten mit essentieller Hypertonie sprechen jedoch auf Kochsalzrestriktion oder Saluretika-Therapie an (148).

4. Tierexperiment

Durch eine sehr Kochsalz-reiche Diät gelingt es, bei Hühnern und Ratten eine arterielle Hypertonie zu erzeugen. Dieser Effekt läßt sich durch die zusätzliche Gabe von Mineralokortikoiden und/oder durch die operative Verminderung der Nierenparenchymmasse verstärken. Auch 2/3-nephrektomierte Hunde zeigen unter chronischer Kochsalzbelastung eine vor-

übergehende Natrium- und Wasser-Retention und eine dauernde Erhöhung des arteriellen Blutdruckes (172). Die von DAHL gezüchteten Rattenstämme unterschiedlicher Kochsalz-Empfindlichkeit wurden bereits erwähnt. Auch bei den japanischen SHR-Stämmen entwickelt sich der "spontane" Hochdruck früher und wird erheblich schwerer, wenn den Tieren vermehrt NaCl zugeführt wird.

III. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen

Wegen der zahlreichen Hinweise für einen Zusammenhang zwischen Kochsalzhaushalt und Hypertonie wurde die Rolle des Natriumions auf zellulärer Ebene vielfach untersucht. Bevor im folgenden Abschnitt auf einige Befunde an transmembranalen Ionentransportsystemen eingegangen werden wird, soll hier zunächst von den Methoden und Ergebnissen der Messung intrazellulärer Elektrolytkonzentrationen die Rede sein.

1. Methoden

Für die Bestimmung der Ionenkonzentrationen im Intrazellulärraum gibt es drei verschiedene Ansätze: 1.) Man mißt die Konzentrationen in einem Gewebshomogenisat und in der Extrazellulärflüssigkeit. Kennt man den Anteil der extrazellulären Flüssigkeit an einem bestimmten Gewebsvolumen, was man durch geeignete Marker annäherungsweise bestimmen kann, so lassen sich die Konzentrationen innerhalb des intrazel-

lulären Kompartiments errechnen. Die Blutkörperchen eignen sich für diese Methode besonders wegen ihrer Verfügbarkeit (auch beim Menschen) und der Tatsache, daß man extra- und intrazellulären Raum recht gut voneinander trennen kann. Auch hier hat man aber mit verschiedenen systematischen Fehlerquellen zu rechnen (163). 2.) Ionenselektive Mikroelektroden verschiedenster Bauart sind ein Mittel, um intrazelluläre Ionenaktivitäten direkt zu bestimmen. Dabei muß allerdings in Kauf genommen werden, daß durch die Punktion der Zellwand bereits Artefakte zustande kommen können. Für diese Methode eignen sich an Organoberflächen gelegene Zellen, wie etwa Nierentubuluszellen. Es kann dabei jeweils nur die Aktivität eines einzelnen Ions im Zytoplasma gemessen werden, allerdings über einen längeren Zeitraum. 3.) Die Elektronenstrahl-Mikroanalyse, die im Kapitel "Methodik" genauer besprochen werden wird, bietet in Ergänzung dazu die Möglichkeit, mehrere Elementkonzentrationen, auch innerhalb subzellulärer Strukturen, simultan mit großer Genauigkeit zu bestimmen. Unter in-vivo-Bedingungen sind dieser Methode nur wenige Zelltypen des Warmblüterorganismus zugänglich. Zeitliche Änderungen von Konzentrationen können nicht verfolgt werden (165, 166).

2. Befunde

a) Blutkörperchen. In Tabelle 1, 2 und 3 sind Angaben verschiedener Autoren über die Natrium- und Kaliumkonzentra-

tionen in Erythrozyten und Leukozyten zusammengestellt. Bei der Verwendung chemischer Bestimmungsmethoden ergeben sich vielfach unterschiedliche Meßwerte (163). Tabelle 1 zeigt signifikante Anstiege der erythrozytären Natriumkonzentrationen bei einigen Patientenkollektiven, vor allem mit primärer Hypertonie (121, 122, 181, 185), aber auch bei sekundären Formen (122, 181).

Tab. 1: Veränderung der Natrium- und Kaliumkonzentration in menschlichen Erythrozyten bei Hypertonie gegenüber Kontrollwerten

	Na	K	Quelle
ess. HT	+	+	(121)
ess. HT	+	+	} (122)
sekund. HT	o	o	
renovask. HT	+		} (181)
ess. HT	+		
ess. HT	o	o	(174)
ess. HT	o	o	(56)
NT, pos. FA	+		} (185)
ess. HT, neg. FA	+		
ess. HT, pos. FA	+		

NT Normotonie, HT Hypertonie, FA Familienanamnese
bezüglich HT, + Anstieg, - Abfall, o unverändert.

Die Arbeit von WALTER und DISTLER zeigt eine gegenteilige Tendenz (174). Auch DUHM und Mitarbeiter konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen nachweisen (56). Arbeiten von AMBROSIONI (Tab. 2) mit menschlichen Lymphozyten zeigen, daß gegenüber normotensiven Patienten ohne Hypertonie in der Familienanamnese der Natriumgehalt der Zellen bei Patienten mit labiler essentieller Hypertonie tendenziell, bei Patienten mit stabiler essentieller Hypertonie und bei Normotonikern mit positiver Familienanamnese aber signifikant erhöht war (2, 3). Auch an Leukozyten essentieller Hypertoniker wurden erhöhte zelluläre Natriumkonzentrationen gemessen (62, 151). Ähnliche Anstiege des erythrozytären Natriumgehaltes bei den normotensiven Nachkommen von Hypertonikern werden in den Arbeiten von HENNIGSEN und NELSON und von ZIDEK und seiner Gruppe beschrieben (95, 185).

Tab. 2: Veränderung der Natrium- und Kaliumkonzentration in menschlichen weißen Blutkörperchen bei Hypertonie

		Na	K	Quelle
Leukozyten	ess. HT	+	o	(62)
	ess. HT	+		(151)
Lymphozyten	ess. HT, pos. FA	(+)		(2)
	NT, pos. FA	+		} (3)
	ess. HT	+		
	Aldosteronismus	+		
	sonstige sek. HT	o		

Tabelle 3 stellt Befunde an Ratten mit verschiedenen Formen der Hypertonie dar. Bei SHR-Ratten fanden BERGLUND, ZIDEK sowie FEIG und Mitarbeiter einen signifikanten Anstieg der erythrozytären Natriumkonzentration (13, 67, 184), was DUHM und Mitarbeiter nicht bestätigen konnten (58). Erhöhte Natriumkonzentrationen wurden von DE MENDOÇA und Mitarbeitern (134) sowie von DUHM und seiner Gruppe (58) bei Tieren mit Mineralokortikoid-Hochdruck gemessen.

Tab. 3: Veränderung der Natrium- und Kaliumkonzentration in Erythrozyten der Ratte bei verschiedenen Hypertonieformen

	Na	K	Quelle
SHR	+	o	(13)
SHR (Münster)	+		(184)
SHR	+	o	(67)
MHS	-		(68)
SHR + NaCl-Gabe	+		} (134)
DOCA + NaCl-Gabe	+		
SHR	o	o	} (58)
DOCA + NaCl-Gabe	+	o	
renovaskulär	o	o	

Abkürzungen vgl. Tab. 1.

b) Blutgefäße. In der Tabelle 4, die auf Angaben von SCHOFFENIELS (160) und CONSTANTOPOULOS (41) zurückgeht und erweitert ist, sind Veränderungen des Wasser- und Kationengehaltes in arteriellem Gewebe zusammengestellt, die bei Versuchstieren mit verschiedenen Formen der Hypertonie und mittels unterschiedlicher Methoden ermittelt wurden.

Fast alle Arbeiten berichten über einen Anstieg des Natriumgehaltes, und zwar sowohl bei der Entwicklung eines renovaskulären Hochdrucks als auch bei Mineralokortikoid-induzierter Hypertonie und bei einigen der SHR-Ratten. Auch der Kaliumgehalt war in sehr vielen Fällen erhöht, einschließlich der DOCA-Tiere. Die gemessenen Veränderungen des Elektrolytgehaltes im gesamten Gefäßgewebe, insbesondere eine Anreicherung von Natrium und Kalium, aber auch die mehrfach beobachtete Einlagerung von Wasser, könnte auch auf Vorgänge innerhalb des extrazellulären Kompartimentes einschließlich der bindegewebigen Grundsubstanz zurückgehen. In einer frühen Arbeit von TOBIAN und BINION wird jedoch bereits errechnet, daß die beobachteten Anstiege des Natrium- und Kaliumgehaltes durch extrazelluläre Veränderungen allein nicht erklärt werden können (170).

Gegenüber der Kontrolle signifikant erhöhte intrazelluläre Natriumaktivitäten ermittelte die Gruppe um LOSSE mit Ionen-selektiver Mikroelektroden an kultivierten glatten Muskelzellen aus der Aorta von SHR(Münster)-Ratten (123, 186). Es gibt keine Messungen von Elektrolytgehalten in Gefäß-muskelzellen beim Menschen, mit Ausnahme der ursprünglichen

Tab. 4: Veränderung des Wasser-, Natrium- und Kaliumgehaltes
in arteriellem Gewebe bei verschiedenen Hypertonieformen

Tier	Gewebe	H ₂ O	Na	K	Quelle (nach 41, 160)
renovaskuläre Hypertonie					
Ratte	Aorta	+	+		Tobian & Binion 1952
Ratte	Aorta		+	+	Redleaf & Tobian 1958
Ratte	Aorta		+	+	Tobian & Redleaf 1958
Ratte	A. mesent.	+	+	+	Koletszy & al. 1959
Ratte	A. mesent.		+	o	Tobian & al. 1961
Kaninchen	Aorta		+	o	Halpern & al. 1964
Hund	Aorta	o	+	+	Jones & al. 1964
Ratte	Aorta		+	+	Demura & al. 1966
Ratte	Aorta	o	+	+	Hagemeyer & al. 1966
Ratte	Aorta	+	+	+	Friedman & Friedman 1967
Ratte	Aorta	+	+	+	Phelan & Wong 1968
Ratte	A. caudal.	+	+	+	Rorive & Cauwenberge 1973
Hund	Arterien	+	+	+	Constantopoulos 1977
DOCA-Kochsalz-induzierte Hypertonie					
Ratte	Aorta	o	+	+	Daniel & Dawkins 1952
Ratte	Aorta		+	+	Tobian & Binion 1952
Ratte	Aorta		+	+	Tobian & Redleaf 1954
Ratte	Aorta	+	+	+	Gross & Schmidt 1958
Ratte	Aorta	+	+	o	Laszt 1960
Ratte	Aorta	o	+	+	Hinke 1966
Ratte	Aorta	+	+	+	Friedman & Friedman 1967
Ratte	Aorta	+	+		Nagaoka & al. 1970
Hund	Arterien	o	+	+	Constantopoulos 1977
spontan hypertensive Stämme					
SHR (jung)	Aorta	o	o	o	Nagaoka & al. 1970
SHR (alt)	Aorta	+	+	+	
SHR	Aorta	o	+	o	Phelan & Wong 1968
SHR	Aorta	o	o	o	Jones 1973
SHR-Münster	Aorta	+	+	-	Wessels & al. 1980 (180)
SHR-Münster	Aorta		+		Losse & al. 1984 (123)
SHR-Münster	Aortamyozyten		+		Zidek & al. 1982 (186)

Abkürzungen vgl. Tab. 1.

Arbeit von TOBIAN und BINION: sie berichteten über einen erhöhten Natriumgehalt in den Nierenarterien von autopsierten Patienten mit arterieller Hypertonie (169).

IV. Membrantransport und Hypertonie

In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche Versuche unternommen, die Ionenflüsse über die Zellmembran bei Hypertonie zu charakterisieren. Blutzellen von Mensch und Tier sowie die glatte Muskulatur der Gefäßwand wurden in verschiedenen Anordnungen studiert. Modelle für mögliche Entstehungsmechanismen der Hypertonie wurden entwickelt. Einige der Befunde und hypothetischen Vorstellungen sollen im folgenden besprochen werden.

1. Na^+ - K^+ -Pumpe

Das klassische System für den aktiven Transport von Kationen über die Zellmembran ist die Na^+ - K^+ -Pumpe (104, 164).

Es handelt sich um einen im Verhältnis von 3:2 gekoppelten, elektrogenen Na^+ -Auswärts- und K^+ -Einwärtstransport, der an allen Körperzellen vorhanden ist. Da es sich um einen aktiven Transport handelt, bedarf er der Energie, welche durch die Hydrolyse des energiereichen Phosphates ATP durch die Mg^{++} -abhängige Na^+ - K^+ -ATPase bereitgestellt wird.

Das Enzym ist durch Herzglykoside vom Typ des Ouabains se-

lektiv hemmbar. Seine Aktivität hängt vom Angebot an extrazellulären Kalium- und intrazellulären Natriumionen ab (104). Seine Hemmung in den Gefäßmuskelzellen durch Perfusion des Strombettes mit kaliumfreier oder Ouabain-haltiger Lösung führt zu einer Erhöhung des vaskulären Widerstandes (94, 118).

Die Niere ist reich an $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, die für einen wesentlichen Teil des Elektrolyttransportes über die Tubulismembran verantwortlich ist (104). Die höchsten Aktivitäten finden sich - bei der Ratte - im dicken Teil des aufsteigenden Schenkels der HENLEschen Schleife, im distalen Konvolut, aber auch im proximalen Konvolut (106). Sowohl die Natrium-Rückresorption am proximalen und vor allem am distalen und spät-distalen Tubulus als auch die Kalium-Sekretion im Sammelrohr lassen sich durch Ouabain hemmen.

Die Aktivität des Enzyms in den einzelnen Segmenten des Nephrons hängt u.a. von der intrazellulären Natriumkonzentration $[\text{Na}]_i$, aber auch vom tubulären Natrium-Load ab (104, 106). Bei ausreichender Kochsalzzufuhr wird die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ durch Mineralokortikoide stimuliert (54, 106, 114, 141). Eine direkte Stimulation des Enzyms (114) bzw. ein vermehrtes Angebot von Natriumionen an die Pumpe durch eine gesteigerte Permeabilität der luminalen Tubuluszellmembran für Na^+ (129, 141) werden als Ursachen dieser Mineralokortikoidwirkung genannt, deren Folge jedenfalls eine gesteigerte Rückresorption von Natriumionen im Bereich

des distalen Tubulus und der Sammelrohre ist. Befunde an der Krötenblase, einem funktionellen Analogon zu distalen Tubulusabschnitten, weisen ebenfalls darauf hin, daß der erste Schritt der Aldosteronwirkung eine Steigerung der Natriumpermeabilität ist, die über eine energieabhängige Rekrutierung inaktiver Na^+ -Kanäle an der luminalen Seite zustande kommt (143).

Wie sich dieses wichtige Transportsystem bei Hypertonie verhält, ist in Tabelle 5 zusammengefaßt.

RODRIGUEZ-SARGENT und Mitarbeiter (157) fanden bei WKY-Kontrollratten, die kochsalzarm ernährt wurden, einen signifikanten Anstieg des Plasma-Aldosteronspiegels und der Aktivität der Na^+-K^+ -ATPase im Nierengewebe. SHR-Ratten zeigten unter diesen Bedingungen keine Veränderung des von vornherein niedrigeren Aldosteron-Spiegels, aber einen entsprechenden Anstieg der Enzymaktivität. Bei normaler Kochsalzzufuhr war die Enzymaktivität bei den hypertensiven Tieren erniedrigt. BERGLUND und Mitarbeiter fanden bei SHR-im Unterschied zu WKY-Ratten eine verminderte Aldosteron-Exkretion im Urin. Die erythrozytäre Natriumkonzentration war erhöht, die Aktivität der Na^+-K^+ -ATPase am Erythrozyten jedoch unverändert (13). WEBB und BOHR berichteten über erhöhte Aktivitäten der Na^+-K^+ -ATPase in Arterienstreifen von SHR (178).

Tab. 5: Veränderung der Aktivität der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase in verschiedenen Geweben und bei verschiedenen Hypertonieformen

Bedingung		Gewebe	Aktivität	Quelle
Ratte	renovaskulär	Myokard	-	(36,37)
	teilnephrekt.	Arterie	-	(144,145)
	DOCA	Arterie	-	(99)
	DOCA	Arterie	+	} (29)
	renovaskulär	Arterie	+	
	SHR	Niere	-	(157)
	SHR	Ery	o	(13)
	SHR	Arterie	+	(178)
	SHR	Ery	+	} (58)
	renovaskulär	Ery	+	
	DOCA	Ery	+	
	SHR	Ery	+	(67)
Hund	renovaskulär	Arterie	-	(142)
Mensch	ess. HT	Ery	-	(150)
	ess. HT	Ery	o	(66)
	ess. HT	Ery	+	(175)
	ess. HT	Ery	+	} (80)
	NT, pos. FA	Ery	+	
	ess. HT	Ery	-	(174)

Abkürzungen vgl. Tab. 1

Eine verminderte Aktivität der Ouabain-hemmbar $\text{en Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase an Erythrozyten von Patienten mit essentieller Hypertonie wurde von POSTNOV und Mitarbeitern gemessen; diese Beobachtung galt nur für niedrige intrazelluläre Konzentrationen an freien Kalziumionen (150). ERDMANN und seine Münchener Gruppe sahen keine Unterschiede in der Aktivität der Ouabain-hemmbar $\text{en Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase in Erythrozyten bei Patienten mit normalem Blutdruck und essentieller Hypertonie (gemessen als ^3H -Ouabain-Bindungsstellen). Lediglich bei hypokaliämischen Patienten fanden sich eine signifikante Vermehrung der ^3H -Ouabain-Bindungsstellen (66). Diätetischer Kaliummangel führte auch nach Messungen von DUHM, GÖBEL und BECK an Ratten-Erythrozyten zu einem starken Anstieg des Ouabain-sensitiven Rb^+ -Influxes bzw. Na^+ -Effluxes, also des durch die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe vermittelten Ionentransports. SPRAGUE-DAWLEY-Ratten mit durch DOCA und Kochsalz induzierter Hypertonie, die auch erniedrigte Plasma-Kalium-Spiegel aufwiesen, zeigten diesen Effekt am deutlichsten. Doch auch normokaliämische Ratten mit einem renovaskulären Hochdruck sowie SHR-Tiere besaßen eine vermehrte Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe (58). Dies wurde von FEIG und Mitarbeitern bestätigt (67). Erythrozyten-Membranen von Patienten mit essentieller und mit renaler Hypertonie zeigten gemäß einer Studie von WAMBACH und Mitarbeitern einen geringen, aber signifikanten Anstieg der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase-Aktivität

gegenüber den bei Gesunden ermittelten Werten; bei Patienten mit Hyperaldosteronismus war dies überraschenderweise nicht der Fall - allerdings wurden hier nur vier Fälle untersucht (175). GARAY und Mitarbeiter berichteten, daß bei Erythrozyten von Patienten mit essentieller Hypertonie sowie von deren Nachkommen der durch die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe vermittelte Na^+ -Efflux um 20-40 % vermehrt sei (80). Ähnliche Beobachtungen machten FEIG und Mitarbeiter (175). WALTER und DISTLER fanden an Erythrozyten essentieller Hypertoniker dagegen einen verminderten Ouabain-empfindlichen Na^+ -Efflux (174). Letzterer Befund steht im Einklang mit zahlreichen Arbeiten von der Gruppe um HADDY. Darin wurden in Blutgefäßen von Hunden und im Myokard von Ratten mit renovaskulärem Hochdruck, in Arterien von DOCA-Kochsalz-hypertensiven und von teilnephrektomierten Ratten konsistent erniedrigte Aktivitäten der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe beschrieben (36, 37, 91, 99, 142, 144, 145). Als Ursache wird eine humoraler Faktor mit Ouabain-artiger Wirkung, der die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe hemmen und so bei hypervolämischen Bedingungen für eine Natriurese sorgen soll, diskutiert (89, 90, 92, 146). BROCK, SMITH und OVERBECK berichteten jedoch unter Verwendung der gleichen Meßmethode, nämlich indem sie den OUABAIN-hemmbareren $^{86}\text{Rb}^+$ -Influx (als Maß für den aktiven K^+ -Einwärtstransport) bestimmten, über gegenteilige Befunde: in Arterienstücken von Ratten mit durch DOCA und Kochsalz-

induzierter und renaler Hypertonie fand sich ein signifikanter Anstieg der Pumpaktivität (29).

Die angeführten Befunde (vgl. Tab. 5) erlauben keine eindeutige Aussage über das Verhalten der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe in vivo. Unter zahlreichen, unterschiedlichen Versuchsbedingungen wurden in vitro sowohl eine Steigerung als auch eine Hemmung der durch die Pumpe bewirkten Ionenflüsse bei Ratten mit spontaner, durch Mineralokortikoiden induzierter und mit renovaskulärer sowie bei Patienten mit essentieller Hypertonie beobachtet.

2. Andere Transportsysteme

Neben dem klassischen Modell der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe sind auch andere, sekundär aktive Transportsysteme an der Plasmamembran beschrieben worden (57, 80): ein durch Phloretin hemmbarer $\text{Na}^+\text{-Na}^+$ -Austausch, welcher auch als $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -Gegentransport wirksam sein kann (55), sowie ein $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Kotransport, der durch Furosemid und Ethacrynsäure inhibierbar ist und als Furosemid-sensitiver, Ouabain-insensitiver Rb^+ -Einwärtstransport gemessen wird (80).

Hemmt man die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe und den aktiven $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Kotransport mittels Ouabain und Furosemid, so bleiben Einwärts- und Auswärtsflüsse von Kalium- und Natriumionen meßbar, die im wesentlichen dem passiven Fluß dieser

Tab. 6: Veränderung der Membranpermeabilität für Natrium und Kalium in Arterien und Erythrozyten bei verschiedenen Hypertonieformen

Bedingung		Gewebe	Na	K	Quelle
Ratte	SHR	Aorta		+	(101)
	DOCA	Aorta		+	(102)
	SHR	Arterie	+	+	} (75)
	DOCA	Arterie	+	+	
	SHR	Ery	+	+	(76)
	SHR	Ery	+		(149)
	SHR	Ery	o	+	} (58)
	DOCA	Ery	+	+	
	SHR	Ery	+		(67)
Mensch	ess. HT	Ery	+		} (179)
	NT, pos. FA	Ery	+		
	ess. HT	Ery	+	+	} (181)
	renovask. HT	Ery	+	+	
	ess. HT	Ery	+		(150)
	ess. HT	Ery	o	o	(80)
	ess. HT	Ery	o	o	(174)
	ess. HT	Ery	+		(67)

Abkürzungen vgl. Tab. 1.

Kationen gemäß ihren elektrochemischen Gradienten entsprechen und als "Leck" bezeichnet werden können. Das Ausmaß dieser passiven Ionenflüsse hängt u.a. von der Permeabilität der Membran für das betreffende Ion ab.

a) Passive Ionenflüsse (Tab. 6). FRIEDMANN und FRIEDMANN stellten mittels ionenselektiver Glaselektroden fest, daß die Zellen der Gefäßmuskulatur von SHR und DOCA-Kochsalz-hypertensiver Ratten für Na^+ und K^+ vermehrt permeabel sind (75). Auch Erythrozyten von SHR zeigten dieses Phänomen (76). JONES und JONES und HART fanden einen erhöhten passiven K^+ -Efflux an der Aorta von SHR- und DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratten (101, 102). DUHM und Mitarbeiter konnten an Erythrozyten von DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratten ebenfalls eine größere Permeabilität für Natrium- und Kaliumionen ermitteln; Erythrozyten von SHR waren nur für K^+ vermehrt permeabel (58). LOSSES Gruppe berichtete von einer signifikant erhöhten Natriumpermeabilität der Erythrozyten von Hypertonikern und von Normotonikern mit familiärer Hochdruckbelastung gegenüber Kontrollwerten (179) und bestätigte diesen Befund später für Patienten mit essentieller, renovaskulärer und maligner Hypertonie. Auch die Permeabilität für K^+ war erhöht (181).

Dagegen fanden weder GARAY und Mitarbeiter noch WALTER und DISTLER eine Veränderung der Na^+ - oder K^+ -Permeabilität an Erythrozyten von essentiellen Hypertonikern (80, 174).

Sowohl bei SHR-Ratten als auch bei Patienten mit essentieller Hypertonie konnten POSTNOV und Mitarbeiter eine erhöhte Permeabilität der Erythrozytenmembran für Na^+ -Ionen feststellen (149, 150). Diese Beobachtung wurde auch von der Gruppe um BOYLAN bestätigt (67).

b) Na^+ - Na^+ -Gegentransport (Tab. 7). Die Gruppe um TOSTESON und CANESSA untersuchte das Verhalten des durch Phloretin hemmbaren, ATP-unabhängigen Na^+ - Na^+ - bzw. Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystems an Erythrozyten von Patienten mit unkomplizierter essentieller Hypertonie. Die Aktivität dieses Transports war bei Hypertonikern gegenüber Kontrollpersonen auf das Doppelte erhöht (31). Auch bei normotensiven Personen mit einer für Hypertonie positiven Familienanamnese war der Na^+ - Li^+ -Gegentransport gesteigert (32). Spätere Arbeiten dieser und anderer Gruppen zeigten aber, daß eine weitgehende Überlappung oder gar keine Unterschiede zwischen normo- und hypertensiven Probandenkollektiven bestehen (31, 182).

Tab. 7: Veränderung des Na^+-Na^+ - (Na^+-Li^+)-Gegentransportes an menschlichen Erythrozyten bei Hypertonie

	Aktivität	Quelle
ess. HT	+	(31)
NT, pos. FA	+	(32)
ess. HT	o	(182)

Abkürzungen vgl. Tab. 1

Als diagnostisches Kriterium oder genetischer Marker für eine essentielle Hypertonie oder die Neigung dazu läßt sich eine veränderte Charakteristik dieses Transportsystems daher wohl nicht verwerten (57).

Nach einer Hypothese von ARONSON könnte ein vom Na^+-Na^+ - bzw. Na^+-Li^+ -Austauschsystem ebenfalls bewirkter Na^+-H^+ -Gegentransport am proximalen Tubulus in der Hypertoniegenese wirksam werden. Dem erhöhten Na^+-Na^+ -Gegentransport am Erythrozyten entspräche dann eine Überaktivität der luminalen Natriumrückresorption (mit vermehrter Protonensekretion) und nachfolgender Kochsalzretention (4).

c) Na^+ - K^+ -Kotransport (Tab. 8). GARAY, MEYER und Mitarbeiter befaßten sich ebenfalls mit dem transmembranalen Elektrolyttransport an Erythrozyten. Während sie bei Patienten mit essentieller Hypertonie und Normotonikern mit Hypertonie in der Familienanamnese keine Unterschiede hinsichtlich der Permeabilität für Na^+ und K^+ gegenüber Kontrollwerten entdeckten, war der Ouabain-insensitive, Furosemid-hemmbarer gekoppelte Na^+ - K^+ -Auswärtstransport nach ihren Untersuchungen deutlich vermindert (80). Auch bei SHR-Ratten stellten sie einen verringerten Na^+ - K^+ -Kotransport aus den Erythrozyten heraus fest (135). Der Netto- Na^+ -Auswärtstransport war dabei sowohl bei den essentiellen Hypertonikern bzw. deren Nachkommen als auch bei

Tab. 8: Veränderung des Na^+ - K^+ -Kotransportes an Erythrozyten bei verschiedenen Hypertonieformen

	Bedingung	Aktivität	Quelle
Ratte	SHR	-	(135)
	SHR	+	(58)
	DOCA	+	
	SHR	+	(67)
Mensch	ess. HT	-	(80)
	NT, pos. FA	-	
	ess. HT	o	(56)
	ess. HT	+	(67)

Abkürzungen vgl. Tab. 1.

SHR-Ratten vermindert (133). Die Autoren postulieren einen genetisch determinierten zellulären Defekt des $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Kotransportes, der zu einer intrazellulären Akkumulation von Natriumionen führe; eine gesteigerte Aktivität der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe diene dabei als Kompensationsmechanismus (80, 135).

Im Gegensatz hierzu stehen die von FEIG und Mitarbeitern bestätigten (67) Befunde von DUHM und Mitarbeitern. Diese maßen den Ouabain-unabhängigen, Furosemid-sensitiven Rb^+ -Einwärtstransport an Erythrozyten von SHR und DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratten sowie von essentiellen Hypertonikern. Die Aktivität des $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Kotransportes war bei SHR gegenüber WKY-Ratten um etwa 50 % erhöht, bei Ratten nach fünftägiger Behandlung mit DOCA und Kochsalz auf das Dreifache der Kontrollwerte. Ähnliche Resultate ließen sich auch durch diätetische Kaliumrestriktionen und durch osmotische Schrumpfung der Erythrozyten erreichen (58, 59). Bei Patienten mit essentieller Hypertonie fanden die Autoren keine konsistenten Unterschiede im Verhalten des $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Kotransportes im Vergleich zu Kontrollpersonen (56). Der offenbare Widerspruch zwischen den Beobachtungen der beiden Autorengruppen hinsichtlich dieses Transportsystems ist in den unterschiedlichen methodischen Ansätzen begründet: GARAY und Mitarbeiter bestimmten den Na^+ -Ausstrom aus unphysiologisch Na^+ -beladenen und K^+ -verarmten Erythrozyten, während DUHM und

seine Mitarbeiter die Aufnahme von K^+ -Äquivalenten ($^{86}Rb^+$ -Ionen) bei normaler Elektrolytzusammensetzung der Zellen untersuchten. Physiologischerweise ist der Transport hier nach intrazellulär gerichtet. Das spricht gegen die These von einem Defekt des Na^+-K^+ -Kotransportes mit konsekutiver zellulärer Na^+ -Retention an der glatten Muskelzelle oder der Niere. Eine herabgesetzte Aktivität des Systems, wie von GARAY postuliert, müßte nämlich zu einem Absinken der Natriumkonzentration in der glatten Muskelzelle bzw. zu einer verminderten Natriumrückresorption im aufsteigenden Schenkel der HENLEschen Schleife ("Furosemid-Effekt") führen (57). Es ist jedoch nicht bekannt, ob ein Na^+-K^+ -Kotransport der Niere überhaupt eine Rolle spielt. Daher soll im folgenden nicht mehr darauf eingegangen werden.

3. Natriuretisches Hormon

In welchem Zusammenhang stehen Kochsalzzufuhr, zellulärer Natriumhaushalt und peripherer Gefäßwiderstand zueinander? Zur Beantwortung dieser zentralen Frage hat DE WARDENER folgende Hypothese entwickelt:

Bei der essentiellen Hypertonie sei die Fähigkeit der Nieren Natrium auszuschcheiden eingeschränkt. Die Zufuhr von Kochsalz führe daher zu einem Anstieg der Plasmakonzentration eines humoralen, Ouabain-artigen Faktors, der den aktiven Natriumtransport an der Zellmembran hemme. Dies führe am Tubulusepithel zur Natriurese und zum Ausgleich der Natriumbilanz. An der Gefäßmuskelzelle aber komme es zu einem Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration. Dies verlangsamt den $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ -Austausch und lasse die zelluläre Kalziumkonzentration ansteigen. Hierdurch steige der Tonus der peripheren Widerstandsgefäße (125, 126, 176, 177). Verschiedene Gedankengänge können dieses hypothetische Modell stützen:

a) Natriumzufuhr. Oben wurde bereits diskutiert, welche Rolle die diätetische Kochsalzbelastung des Organismus für die Entstehung der Hypertonie spielen kann. Eine hohe Natriumzufuhr könnte die Ausschüttung eines natriuretisch wirksamen Faktors notwendig machen.

b) Genetischer Defekt an der Niere. Für eine kausale Rolle der Niere bei der primären Hypertonie des Menschen gibt es ~~man~~chen Hinweis: Homologe Nieren-Kreuztransplantationen bei Rattenstämmen mit genetisch bedingter Hochdruckneigung zeigten, daß die Hypertonie "mit der Niere" übertragbar war (14, 45, 71). Dies wird als Hinweis für einen primären Nierendefekt gesehen, der die vermehrte Ausschüttung eines natriuretisch wirksamen Faktors zur Folge haben könnte, um die mangelhafte renale Natriumexkretion zu kompensieren (176).

c) Expansion des Extrazellulärtraumes. Zwar haben Patienten mit essentieller Hypertonie kein vergrößertes Extrazellulärvolumen (159), doch reagieren sie auf Kochsalzbelastung mit einer vermehrten Natriurese (124). Es wäre denkbar, daß dies die Folge eines natriuretischen Faktors ist. Sowohl beim Menschen wie beim Hund lassen sich bei Zuständen akuter hypertoner Volumenexpansion aus Plasma bzw. Urin Extrakte gewinnen, die im Bio-Assay eine starke natriuretische Wirkung entfalten (116, 176). Das Modell des Mineralokortikoidhochdrucks (M. CONN, DOCA-Ratten) simuliert eine derartige Störung des Natriumhaushaltes und sollte zur vermehrten Ausschüttung eines natriuretischen Faktors führen (116, 126).

d) Darstellung natriuretisch wirksamer Substanzen.

Auf der Suche nach dem natriuretischen Faktor ließen sich aus Plasma, Urin und Hirngewebe aus der Hypothalamusregion Extrakte herstellen, die natriuretisch wirksam waren und unterschiedliche chemische Eigenschaften besaßen (116, 126, 177). In jüngerer Zeit wurde das Interesse auf ein natriuretisches Prinzip gelenkt, das aus dem Herzvorhof der Ratte gewonnen werden konnte. Aus Vorhofextrakten konnten die Gruppen um DE BOLD und um CURRIE (22, 42) Peptide von praktisch identischer Aminosäuresequenz darstellen, die diuretische und natriuretische Eigenschaften besitzen. Es handelt sich um ein Peptid mit 21 bzw. 23 Aminosäuren und einer Cystin-Disulfidbrücke (42).

Mikropunktionsuntersuchungen von BRIGGS und SCHNERMANN brachten Erkenntnisse über die Wirkung von Vorhofextrakten auf die Nierenfunktion bei der Ratte. Harnvolumen und Natriumausscheidung stiegen nur 90 sec nach Injektion des Extraktes auf das 10- bzw. 30-fache an (27). Der Wirkungsmechanismus dieses atrialen natriuretischen Faktors ist jedoch noch unbekannt (28).

e) Digitalis-artige Wirkung. Es wird angenommen, daß der humorale natriuretische Faktor eine hemmende Wirkung auf die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase ausübe ("endogenes Digitalis") und auf diese Weise die aktive Natrium-Rückresorption im Nieren-

tubulus vermindere. Verschiedene Autoren konnten beobachten, daß Extrakte mit natriuretischen Eigenschaften die Aktivität der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase an der Leukozytenmembran und den Natriumtransport an Nierentubuluszellen hemmten (116, 177). GRUBER und Mitarbeiter gewannen aus Plasmaextrakten akut Volumen-expandierter Hunde auf chromatographischem Wege zwei Substanzfraktionen mit peptidartigen Eigenschaften, die die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase bereits in geringerer Konzentration als Ouabain hemmten und durch Digoxin-Antikörper spezifisch gebunden wurden (85).

Das Verhalten der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe und anderer Na^+ -Transportsysteme an der Erythrozytenmembran sowie an Gefäßmuskelzellen bei Hypertonie wurde oben diskutiert: Ein Teil der Arbeiten berichtet über eine Inhibition der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase. Die vielfach beobachtete Aktivierung wäre dadurch erklärlich, daß ein reversibel gebundener humoraler Faktor in vitro nicht mehr wirksam zu sein braucht.

f) Wirkung auf die Gefäßmuskelzelle. An der glatten Muskelzelle des arteriolen Strombettes soll sich nach BLAUSTEIN (16-19) nun die Hypertonie-erzeugende Wirkung des natriuretischen Faktors entfalten. Ein Anstieg von $[\text{Na}]_i$ könnte in der glatten Muskelzelle - sei es durch eine Hemmung der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe oder durch eine erhöhte Permeabilität der Membran für Na^+ - zum Anstieg von $[\text{Ca}^{++}]_i$ führen, indem das $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ -Austauschsystem am Sarkolemm inhibiert wird.

Nach der Hypothese BLAUSTEINS ist bei einem Anstieg von $[Na^+]_i$ der elektrochemische Gradient von $[Na^+]_o/[Na^+]_i$ und damit die treibende Kraft für den gekoppelten Na^+-Ca^{++} -Gegentransport vermindert. Eine solche Hemmung des Kalzium-Ausstroms durch den Anstieg von $[Na^+]_i$ führe also zu einem parallelen Anstieg von $[Ca^{++}]_i$ und somit zu einem erhöhten Gefäßtonus. Bei überschlagsmäßiger Berechnung würde ein Anstieg von $[Na^+]_i$ um 5 % die Konzentration an ionisiertem Kalzium im Zytoplasma von $1,5$ auf $1,7 \cdot 10^{-7}$ mmol $\cdot$ l $^{-1}$ erhöhen und bei einem gleichbleibenden Ruhemembranpotential von -40 mV die Muskelspannung von 14 auf 21 % der Maximalspannung steigern (16). Obwohl diese Hypothese letztlich unbewiesen ist, hat sie den Vorteil, als "gemeinsame Endstrecke" mit allen Modellen der Hypertoniegenese, die eine erhöhte intrazelluläre Natriumkonzentration beinhalten, vereinbar zu sein (137). Ein enger Kausalnexus zwischen den Vorstellungen BLAUSTEINS und dem Wirksamwerden eines natriuretischen Hormon (17) erscheint daher als möglich, wenn auch nicht als zwingend.

D. METHODIK

I. Beschreibung der Experimente

1. Material

Als Versuchstiere wurden männliche SPRAGUE-DAWLEY-Ratten (Mus Rattus, Brunnthäl, Obb.) verwendet. Sobald sie ein Körpergewicht von 100 g erreicht hatten, wurden sie folgendermaßen aufgeteilt und behandelt:

Die Kontrollgruppe erhielt das Standardfutter Altromin C 1320 (Na $0,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, K $1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) und hatte freien Zugang zu Leitungswasser. Nach 17 bis 33, im Mittel 23 Tagen, wurde den Tieren eine Niere entnommen. Die Kontrollgruppe umfaßte 7 Tiere.

Die Tiere der DOCA-kurz-Gruppe bekamen ebenfalls das Standardfutter Altromin C 1320. Um eine Hypertonie zu erzielen, wurde ihnen an 6 Tagen der Woche 25 mg/kg Körpergewicht Desoxycorticosterontrimethylacetat (DOCA) als ölige Lösung (Per-corten "M", CIBA) subcutan injiziert. Sie erhielten ausschließlich 1 %ige Kochsalzlösung ad libitum zu trinken. Nach 14 bis 22, im Mittel 18 Tagen, wurde den Tieren die linke Niere entnommen. Von dieser Gruppe wurden 5 Tiere untersucht.

Die Ratten der DOCA-lang-Gruppe erhielten ebenfalls neben dem Standardfutter 1 %ige Kochsalzlösung und DOCA-Injek-

tionen wie oben beschrieben. Diese Behandlung dauerte aber 23 bis 49, im Mittel 38 Tage. Zehn Tiere dieser Gruppe wurden untersucht.

2. Präparation

Zur Narkose wurde den Tieren Thiobutabarbital-Natrium (Inaktin/BYK) in einer Dosis von $110 \text{ mg} \cdot \text{kg Körpergewicht}^{-1}$ intraperitonäal injiziert. Natriumthiobarbital hat in Tierexperimenten mit nierenphysiologischen Fragestellungen verbreitet Anwendung gefunden. Nach neueren Untersuchungen (49, 87, 88) scheint es in der angegebenen Dosierung Blutdruck und Nierenfunktion weit weniger zu beeinflussen als bisher angenommen (63, 64).

Zum Schutz vor Auskühlung wurden die Tiere auf einem Tisch, der mit einer regelbaren Heizung versehen war, präpariert. Die Körpertemperatur wurde rektal gemessen und bei 38°C gehalten. Um die Atemwege freizuhalten, wurden die Tiere tracheotomiert und regelmäßig abgesaugt. Die rechte Vena jugularis wurde als Zugang für Infusionen freigelegt und mit einem feinen Polyäthylenkatheter cannuliert. Zur direkten Blutdruckmessung wurde eine Arteria femoralis katheterisiert. Der Katheter war mit heparinisierte 0,9 %iger Kochsalzlösung gefüllt und an einen Druckaufnehmer (GOULD Stat-ham P23b) angeschlossen. Systolischer und diastolischer Blutdruck bzw. arterieller Mitteldruck wurden kontinuierlich von einem Schreiber (Recomed/HELLIGE) registriert.

Nach einem subkostalen Flankenschnitt und einer Erholungsperiode wurde die linke Niere vorsichtig mobilisiert und bis zum Hilus aus der Capsula adiposa freipräpariert. Anschließend wurde eine mit Watte gepolsterte Nierenschale aus Plexiglas in der Bauchhöhle plaziert und die Niere darin gelagert.

Bei diesem Manöver und während der gesamten Präparation wurde besonders darauf geachtet, die Hilusgefäße nicht zu zerren oder zu knicken. Untersuchungen mittels der Elektronenstrahl-Mikroanalyse haben gezeigt, daß Ischämie der Niere zu erheblichen intrazellulären Elektrolytverschiebungen führt (130, 166). Derartige Veränderungen wurden durch besonders sorgfältiges Präparieren und gute Fixierung des Organs in der Nierenschale verhütet. Die Schale war ihrerseits durch eine verstellbare Klemmvorrichtung mit dem Präpariertisch fest verbunden. Die fortlaufende Registrierung des Blutdrucks und die Kontrolle der Farbe des Parenchyms erlaubten es, die Nierenperfusion intraoperativ zu beurteilen.

Unter mikroskopischer Sicht (WILD Aufsichtsmikroskop) bei 4- bis 16-facher Vergrößerung wurde die Nierenoberfläche weiter bis auf die Capsula fibrosa von Fett- und lockerem Bindegewebe befreit. Ein feiner Polyäthylenkatheter wurde in den Ureter eingebunden. Die so vorbereitete Niere wurde mit Watte bedeckt und kontinuierlich mit erwärmtem Paraffinum liquidum betropft. Die Öltemperatur direkt an der Nie-

renoberfläche wurde über einen feinen Thermofühler und einen Heizwiderstand auf 37,5°C eingeregelt. Dadurch wurden eine Auskühlung und Austrocknung der Niere verhütet und damit verbundene Veränderungen der glomerulären Filtrationsrate und tubulärer Transportvorgänge vermieden.

Zur Beurteilung des Funktionszustandes des präparierten Organs wurde die glomeruläre Filtrationsrate als Inulin-Clearance bestimmt (120, 152). Dazu wurde eine 4 %ige Polyfruktosanlösung (Inutest/Laevosan) (136) in 0,9 %iger Kochsalzlösung angesetzt und mit einer elektrischen Infusionspumpe (Unita III/BRAUN-Melsungen) über den Jugulariskatheter infundiert. Nach einem initialen Stoß von 0,5 ml über 5 min wurde mit einer konstanten Rate von ca. $0,5 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ 100 g KG^{-1} weiterinfundiert. Dabei stellten sich gut bestimmbare Plasma-Inulinspiegel ein. Nach einer Äquilibrationsperiode von 60 min wurde zweimal für je 30 min Katheterurin gesammelt und in der Mitte jeder Sammelperiode arterielle Blutproben abgenommen. Zur Clearancebestimmung wurden die Inulinkonzentrationen in Plasma und Urin gemessen. Außerdem wurden im Urin die Osmolalität und bei 5 der DOCA-lang-Tiere Natrium-, Kalium- und Chloridkonzentrationen bestimmt.

II. Probengewinnung

1. Auftragen des Standards

Zur Gewinnung einer Gewebprobe wurde die freigelegte Niere anschließend mit erwärmter 0,9 %iger Kochsalzlösung abgespült, zart trockengetupft und sofort mit einer dünnen Schicht einer Albumin-Standardlösung mit bekanntem Elektrolytgehalt überzogen.

Der Standard dient zur Quantifizierung der zellulären Spektren und muß deshalb mit dem Gewebe gemeinsam geschnitten werden. Wird der Albuminstandard direkt auf die Organoberfläche aufgetragen, ist an Froschhaut, Krötenblase und Nierenkortex eine zuverlässige Quantifizierung für in der Nähe des Standards gelegene Strukturen (bis ca. 150 μm) möglich (9, 153, 154). Je dünner die Albuminschicht ist, desto besser sind die Einfrierraten für die Nierenoberfläche.

Die Zusammensetzung der zum Plasma isotonen Standardlösungen ist in Tabelle 9 wiedergegeben. Die Kaliumkonzentration wurde entsprechend der Plasma-Kaliumkonzentration der DOCA-Ratten gewählt.

Tab. 9: Zusammensetzung der Albumin-Standardlösungen

	Na	K	Cl	Osm.	TG
	$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$			$\text{mosmol} \cdot \text{l}^{-1} \%$	
Kontrollgruppe	145	4,0	110	300	20
DOCA-Gruppen	145	2,0	110	300	20

Der Zusatz von $20 \text{ g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ gereinigten Rinderalbumins (BEHRING-Marburg) diente als organische Matrix für eine homogene mikrokristalline Präzipitation der Elektrolyte bei der Gefriertrocknung. Das Albumin ist wegen seiner dem Gewebe ähnlichen Elementzusammensetzung als Bezugspunkt für das Trockengewicht und den Massenverlust in der Gewebprobe geeignet.

2. Nierenentnahme

Unmittelbar nach dem Aufbringen des Standards wurde der Nierenhilus abgeklemmt und abgesetzt. Das Organ wurde sofort in ein Gefäß mit Einfriermedium eingetaucht und so schockgefroren.

Die "warme Ischämiezeit", d.h. die Zeit zwischen Abklemmen und Einfrieren, betrug in keinem Fall mehr als 1 bis 2 sec, so daß ischämiebedingte Veränderungen (130, 166) vernachlässigbar gering gehalten wurden.

Von den Ratten wurden nach der Nierenentnahme noch Blutproben gewonnen und auf die Plasma-Natrium-, Kalium- und Chloridkonzentration sowie die Plasmaosmolalität hin untersucht. Die kontralateralen Nieren wurden entnommen, von der Kapsel befreit, gewogen und in Formaldehydlösung fixiert.

3. Schockgefrieren

Vorteil der hier verwendeten Methodik ist es, intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen messen zu können, wie sie intravital vorliegen. Die hohen Konzentrationsgradienten zwischen intra- und extrazellulärem Kompartiment verringern sich jedoch, wenn das Gewebe ischämisch wird (130, 166). Schlagartiges Schockgefrieren hält das zelluläre Elektrolytmuster fest. Die Einfriergeschwindigkeit von biologischen Geweben, d.h. die Geschwindigkeit, mit der das Gewebe Wärmeenergie an das Einfriermedium abgeben kann, wird im wesentlichen von den Temperaturgradienten zwischen beiden sowie ihrer Wärmeleitfähigkeit bestimmt. Die zu 70 bis 80 % aus Wasser bestehenden biologischen Gewebe werden selbst unter optimalen Bedingungen nur in einer oberflächlichen Schicht vitrifiziert (138). In tieferen Schichten erfolgt der Wärmeentzug langsamer, und es kommt zur Bildung von immer größeren Eiskristallen. Erreichen die Eiskristalle eine gewisse Größe, zerstören sie die zelluläre Feinstruktur und verursachen morphologische Veränderungen und Elektrolytdislokationen. Die entstehende Kristallisationswärme verlangsamt den Einfrierprozeß zusätzlich. Je langsamer die Gewebeswärme abgegeben werden kann, desto größer werden die Eiskristalle durch Anlagerung von Wasser, während in der Umgebung die Konzentration der gelösten Teilchen zunimmt und zu lokalen Gefrierpunktserniedrigungen führt. Im extrazellulären Raum verläuft die Auskristallisierung rascher als intrazellulär,

so daß die Gefahr besteht, daß Wasser aus der Zelle ins Interstitium verlagert und die intrazellulären Elektrolytkonzentrationen erhöht werden.

Zur Verringerung derartiger Kristallisationsartefakte sind "Kryofixativa" (72) und "Kryoprotektiva" (73) vorgeschlagen worden, die sich aber als unzumutbar erwiesen haben.

Als Einfriermedium wurde ein auf -196°C abgekühltes Gemisch von Propan und Isopentan (2-Methyl-Butan) im Volumenverhältnis von 3:1 verwandt. Beide Stoffe haben gegenüber flüssigem Stickstoff den Vorteil, daß ihr Siedepunkt erheblich höher liegt. Dadurch wird das Auftreten einer isolierenden Gasschicht zwischen Probe und Medium (LEIDEN-FROSTsches Phänomen) wesentlich herabgesetzt. Der Festpunkt eines 3:1-Propan-Isopentan-Gemisches liegt im Gegensatz zu dem der Einzelkomponenten unter -196°C , dem Kochpunkt von N_2 (100). Daher kann man ein derartiges Einfriermedium einfach mit flüssigem Stickstoff auf eine sehr tiefe Ausgangstemperatur abkühlen.

Bei dem beschriebenen Einfrierverfahren war die Niere bis zu einer Tiefe von etwa 150 μm unterhalb der Oberfläche noch zufriedenstellend eingefroren. Das bedeutete, daß Analysen vergleichbarer Strukturen direkt unter der Organoberfläche und in der Tiefe keine wesentlichen Unterschiede ergaben.

Bis zur weiteren Aufarbeitung wurde das Präparat unter flüssigem Stickstoff aufbewahrt. Unter diesen Bedingungen

lassen sich selbst nach mehrmonatiger Lagerung keine Änderungen der Konzentrationen im Gewebe beobachten.

III. Probenaufbereitung

1. Kryomikrotomie

Die weitere Aufarbeitung folgte dem Verfahren, das BECK und Mitarbeiter (9) sowie RICK (155) als zweckmäßig angegeben haben.

Zur Herstellung von Gefrierschnitten wurde unter flüssigem Stickstoff aus der albuminüberzogenen Nierenoberfläche ein 2 bis 3 mm großes Gewebstückchen herausgebrochen und zwischen zwei Indiumblättchen in den Backen eines Objekthalters aus Messing festgeklemmt. Der Objekthalter mit dem Präparat wurde - ebenfalls unter flüssigem Stickstoff - in die auf -110°C ab gekühlte Schneidekammer des Kryomikrotoms gebracht und am Schneidearm (-110°C) montiert. Die Gefrierschnitte wurden in einem modifizierten REICHERT Ultramikrotom (OMU 2) mit einem mit gasförmigem Stickstoff (-160°C) betriebenen Gefrierzusatz (SHANDON FC 150) angefertigt. Zunächst wurde das Gewebstückchen zu einem Quader von ca. $0,2 \cdot 0,3$ mm Kantenlänge zurechtgetrimmt, aus dem dann manuell Gefrierschnitte von ca. $1\text{ }\mu\text{m}$ Dicke hergestellt wurden. Die Schnittführung erfolgte so, daß Messerkante und Albuminoberfläche einen rechten Winkel zueinander bildeten. Damit stimmten

gleichzeitig geschnittene Albumin- und Probenareale in ihrer Dicke stets überein und waren miteinander vergleichbar. Die Schnitte wurden vom Messerrücken auf einen über die Öffnung eines Nickelgrids gespannten Formvarfilm aufgenommen. Das Grid wurde dann so auf einer mit einer Kollodiumfolie bespannten Lochbühne abgelegt, daß der Schnitt zwischen den beiden Folien fixiert war. Bei einer Schnittdicke von $1\text{ }\mu\text{m}$ sind die Schnitte erheblich dünner als die Zellkerne (5 bis $10\text{ }\mu\text{m}$), so daß die Anregung übereinanderliegender Zellkompartimente bei der Analyse des Zellkern-Areals ausgeschlossen ist. Je geringer die Schnittdicke ist, desto geringer ist auch die laterale Ablenkung der Elektronen durch die Probe. Damit verbessert sich bei gegebener Dichte des Probenmaterials und gegebener Beschleunigungsspannung die räumliche Auflösung. Andererseits können bei erheblich dünneren Schnitten bereits durch lokale Inhomogenitäten, wie sie durch kleinste Eiskristalle verursacht werden, Artefakte auftreten. Weiterhin nehmen mit geringerer Schnittdicke auch das angeregte Probenvolumen und die pro Zeiteinheit erreichte spezifische Zählrate ab, während konstante, unspezifische Anteile des Röntgenspektrums größer werden (6).

2. Gefriertrocknung

Die Lochbühne mit den Grids wurde in einer kleinen, in flüssigem N_2 abgekühlten Metallkapsel in die Gefriertrocknungs-

anlage (PFEIFFER TP 100) gebracht. Dort wurden die Präparate bei -80°C und 10^{-6} Torr für mindestens zwei Stunden dehydriert. Das Gewebe wurde anschließend auf Zimmertemperatur erwärmt und möglichst rasch analysiert.

IV. Elektronenstrahl-Mikroanalyse

1. Prinzip

Die Elektronenstrahl-Mikroanalyse ist ein physikalisches Meßverfahren, das auf der Tatsache beruht, daß mit energiereichen Elektronen beschossene Atome eine elementspezifische, charakteristische Röntgenstrahlung emittieren. Eine ausführliche Darstellung und Diskussion dieser Methode findet sich in den Schriften von DÖRGE und Mitarbeitern (50, 51, 52) und von RICK (155).

Treffen energiereiche Elektronen auf Materie auf, so absorbiert diese proportional zu ihrer Masse eine gewisse Energiemenge, welche sie als elektromagnetische Strahlung wieder abgeben kann. Ein Teil dieser Strahlung besteht aus Röntgenstrahlung. Sie setzt sich wiederum aus einem uncharakteristischen Anteil, dem Röntgenkontinuum, und der elementspezifischen Strahlung, dem Linienspektrum, zusammen. Letztere entsteht, wenn die kinetische Energie eines einfallenden Elektrons ausreicht, um ein Elektron aus einem der inneren Orbitale der bestrahlten Atome herauszuschlagen. Die dadurch freigewordene Lücke wird von einem anderen

Elektron aus einer der äußeren, "energiereicheren" Schalen eingenommen. Dabei wird ein Röntgenquant emittiert, dessen Strahlungsenergie, dem Unterschied zwischen den Energieniveaus der beiden Schalen entsprechend, elementspezifisch ist. So kommen elementspezifische Spektrallinien zustande. Beim Übergang eines Elektrons aus der L- oder M-Schale auf eine K-Schalenlücke wird z.B. Strahlung mit der Energie der K_{α} - bzw. K_{β} -Linie frei. Aus den im Linienspektrum meßbaren Linienintensitäten kann man auf die Menge eines bestimmten Elements im angeregten Probenvolumen schließen.

Bei der Elektronenstrahl-Mikroanalyse dient die Kathode eines Rasterelektronenmikroskops als Elektronenquelle. Zum Nachweis der emittierten Röntgenstrahlen sind Lithium-dotierte Silizium-Halbleiterkristalle geeignet. Der Kathodenstrahl tastet das Untersuchungsobjekt rasterförmig ab und führt zur Emission spezifischer und nichtspezifischer ("weißer") Röntgenstrahlung. Die durch die Probe transmittierten Elektronen werden dagegen von einem Elektronendetektor, einem Szintillationskristall, aufgefangen und erzeugen über einen Photomultiplier ein Raster-Transmissionsbild des Gewebsschnittes. Man kann das Transmissionsbild auch photographisch festhalten und jedes Meßfeld darauf identifizieren und markieren.

2. Analyse der Gewebsschnitte

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde ein Rasterelektronenmikroskop (Cambridge Instruments Stereoscan S 4) verwendet, das mit einem energiedispersiven Röntgendetektor (LINK Systems) bestückt war. Im Gegensatz zur sogenannten wellenlängendispersiven Analyse, die eine bessere Auflösung des Linienspektrums ermöglicht, erlaubt die energiedispersive Analyse, Elemente noch bis zu einer Masse von 10^{-18} g zu messen (93). Die Gefrierschnitte wurden mit einem Kathodenstrom von 0,8 nA und einer Beschleunigungsspannung von 17 kV bestrahlt.

Zur Analyse befanden sich die Nickel-Grids mit den gefriergetrockneten Schnitten auf einer beweglichen Probenbühne aus hochgereinigtem Graphit, welche die Streustrahlung absorbiert, ohne dabei selbst einen störenden Strahlungsbeitrag zu liefern. Bei einem geringen Abstand von Probe und Röntgendetektor (ca. 7 mm) und einer Detektorfläche von 30 mm^2 beträgt die Zählausbeute bei der verwendeten Anordnung ca. 5 % der abgegebenen Strahlung.

Die Meßfelder wurden so gewählt, daß ein möglichst großer Anteil der Zellkerne erfaßt und damit eine möglicherweise inhomogene Elementverteilung ausgeglichen wurden. Dennoch reichte das Meßfeld nicht über die Zellkerngrenzen hinaus, so daß eine Fläche von etwa $10 \text{ } \mu\text{m}^2$ bzw. ein Probenvolumen von $10 \text{ } \mu\text{m}^3$ angeregt wurden. Bei der Bestrahlung von biologischen Geweben kann es durch Verkohlung, Spaltung von

Makromolekülen und Verlust leichter Seitenketten zu einem Massenverlust kommen. Davon sind jedoch bei der hier verwendeten Anordnung und Strahlendosis die Elektrolyte wie Natrium, Kalium und Chlorid nicht betroffen; es kommt lediglich für Elemente der biologischen Matrix wie Wasserstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff, Schwefel und Stickstoff zu einem nennenswerten Massenverlust (93, 97).

3. Auswertung der Impulshöhenspektren

Die Primärspektren wurden mit Hilfe eines komplexen Rechenprogramms (7, 8, 155) in einer elektronischen Datenverarbeitungsanlage (Data General Eclipse S 230) ausgewertet. Unter Berücksichtigung der physikalischen Gesetzmäßigkeiten der Atomanregung durch den Elektronenstrahl und der charakteristischen Kenndaten der Meßgeräte wird die unspezifische "weiße" Strahlung bestimmt und das spezifische Linienspektrum in rechnerischen Iterationen an das gemessene Impulshöhenspektrum angepaßt. Damit lassen sich die "wahren" Liniennintensitäten auch numerisch ausdrücken und zur Quantifikation heranziehen.

Die Diskriminationsleistung des gesamten Meßsystems ist hoch genug, um noch Konzentrationen von 2 bis 3 mmol $\cdot$ kg Feuchtgewicht⁻¹ für Natrium und weniger als 1 mmol $\cdot$ kg FG⁻¹ für andere Elemente nachzuweisen (156).

4. Quantifikation

Für die Berechnung von Elementkonzentrationen aus den Linienintensitäten der angepaßten Impulshöhenspektren sind im wesentlichen zwei Methoden praktikabel. Im Gegensatz zu anderen Autoren, die einen externen Standard verwenden (50, 93, 128), wobei Probe und Standard getrennt analysiert und anhand der massenbedingten "weißen" Strahlung miteinander verglichen werden, benützte die vorliegende Untersuchung einen internen, mit dem Gewebe verarbeiteten Standard. Dabei ergeben sich die Elementkonzentrationen, bezogen auf das Feuchtgewicht, direkt aus dem Vergleich der elementspezifischen Linienintensitäten von Gewebe und Standard, weil die Schnittdicken von Gewebs- und Standardareal auf gleichen Schnitthöhen jeweils gleich sind (51, 55).

Für ein Element X, das in Standard und Gewebe enthalten ist, gilt daher:

$$\frac{C_{X(\text{Gewebe})}}{P_{X(\text{Gewebe})}} = \frac{C_{X(\text{Standard})}}{P_{X(\text{Standard})}}$$

mit C_X = Konzentration des Elementes X und

P_X = elementspezifische Strahlung für X.

Ist $C_{X(\text{Standard})}$ bekannt, so ergibt sich die Gewebekonzentration zu

$$C_{X(\text{Gewebe})} = \frac{P_{X(\text{Gewebe})}}{P_{X(\text{Standard})}} \cdot C_{X(\text{Standard})}.$$

Die Gewebekonzentrationen der Elemente Y, die nicht oder in sehr geringer Konzentration im Standard repräsentiert waren (Phosphor, Kalium), wurden indirekt über die Linienintensität von Chlor nach folgender Formel berechnet:

$$C_{Y(\text{Gewebe})} = \frac{C_{Y(\text{Gewebe})}}{P_{Cl(\text{Standard})}} \cdot C_{Cl(\text{Standard})} \cdot K_Y$$

Der Anregungsfaktor K_Y ist ein Maß für die im Vergleich zu Cl unterschiedlich hohe Anregung des Elementes Y durch die Elektronenstrahlung. Die Trockengewichte (TG) ergaben sich aus der "weißen" Strahlung (WS) zu

$$TG_{(\text{Gewebe})} = \frac{P_{WS(\text{Gewebe})}}{P_{WS(\text{Standard})}} \cdot TG_{(\text{Standard})}$$

Dabei kann vorausgesetzt werden, daß der Massenverlust in Gewebe und Albumin-Standardlösung, die eine ähnliche chemische Zusammensetzung haben, gleich ist (155).

Alle Elementkonzentrationen in Geweben werden in der Folge in $\text{mmol} \cdot \text{kg Feuchtgewicht}^{-1}$ (FG) angegeben, die Trockengewichte in % des Feuchtgewichts.

V. Chemische Analysen

Die Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Plasma, Urin und Standardlösung wurden flammenphotometrisch (Instrumentation Laboratory Flame Photometer 543), die des Chlorids mittels Silberdraht-Chloridometrie (Eppendorf Chloridometer 6610)

bestimmt. Für die Bestimmung der Plasma- und Urinosmolalitäten wurde ein Dampfdruckosmometer (WESCOR Vapour Pressure Osmometer 5100 B) verwendet.

Die Inulinbestimmung im Serum folgte der Anthron-Methode nach FÜHR und Mitarbeitern (79), wobei ein Spektralphotometer (PERKIN ELMER 551 S) benützt wurde. Das Trockengewicht der Albumin-Standardlösungen wurde durch Wägung eines Aliquots vor und nach dem Trocknen (HERAEUS Trockenofen) ermittelt.

VI. Histologie

Die histologische Aufarbeitung wurde freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. med. M. GOKEL vom Pathologischen Institut der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. med. M. EDER) übernommen. Dazu wurden Nieren von Ratten aller drei untersuchten Gruppen kodiert, in Formaldehyd fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämalaun-Eosin, einer Elastin-Färbung, Perjodsäure-SCHIFF (PAS) und nach VAN GIESON gefärbt und lichtmikroskopisch untersucht.

VII. Statistik

Die in den einzelnen Gruppen für proximale und distale Tubuluszellen ermittelten Einzelwerte wurden jeweils zusammengefaßt. Die Mittelwerte daraus wurden mit dem zweiseitigen

t-Test für unverbundene Stichproben (158, 173) auf ihr Signifikanzniveau gemäß der STUDENT-Verteilung hin untersucht. Die Ergebnisse sind mit dem Standardfehler des Mittelwertes (SEM) und den jeweiligen Signifikanzniveaus bezüglich der Kontrollgruppe angegeben. Der t-Test wurde bereits vielfach bei ähnlichen Fragestellungen angewandt (9, 10, 11, 48, 53, 130). Obwohl Varianzanalysen wegen der teilweise niedrigen Fallzahlen nicht durchgeführt werden konnten, darf aufgrund von Histogrammen der Einzelmessungen innerhalb der jeweiligen Gruppen eine Normalverteilung der Ergebnisse bei gleicher Varianz angenommen werden.

Die Mittelwerte der Elektrolytkonzentrationen in Urin und Plasma, der Höhe des Blutdrucks etc. wurden ebenfalls mit dem t-Test auf signifikante Unterschiede hin geprüft und sind mit der Standardabweichung (SD) angegeben.

E. ERGEBNISSE

I. Morphologie und Funktion

1. Körpergewicht und Blutdruck

Der arterielle Blutdruck stieg während der DOCA-Kochsalzbehandlung deutlich an. Seine Höhe zeigte eine signifikante ($P < 0,01$) positive Korrelation ($r = 0,69$) zur Dauer der Behandlung (Fig. 1). Bei den Kontrolltieren bestand keine Abhängigkeit des Blutdrucks von der Behandlungsdauer ($r = 0,25$); hier war der mittlere arterielle Mitteldruck (MAP $\pm$ SD) $122 \pm 5,1$ mm Hg. In der durchschnittlich über 18 Tage

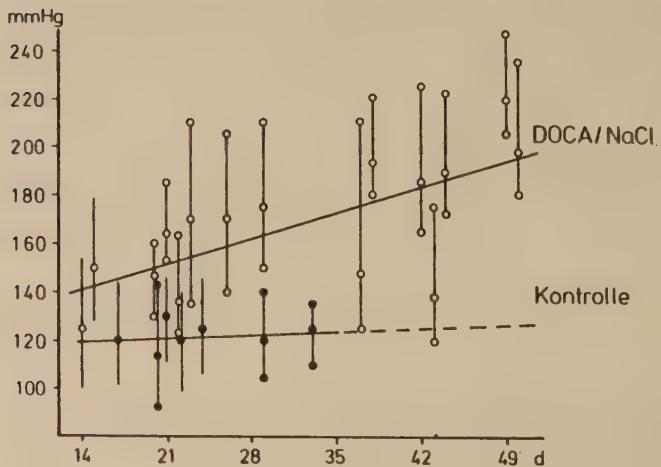


Fig. 1: Blutdruckentwicklung in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer (d) bei Kontroll- und DOCA-Kochsalz-behandelten Tieren; $r_{\text{DOCA}} = 0,69$ ($2P < 0,01$).

behandelten Gruppe (DOCA-kurz) betrug der MAP 144 ± 15 mm Hg, in der durchschnittlich 38,1 Tage lang behandelten Gruppe (DOCA-lang) 179 ± 29 mm Hg. Beide Werte sind signifikant ($2 P < 0,001$) höher als in der Kontrollgruppe; auch der Unterschied zwischen DOCA-kurz und DOCA-lang ist signifikant ($2 P < 0,02$) (Tab. 11, siehe S. 62).

Das Wachstum der Ratten unter DOCA-NaCl-Behandlung blieb hinter dem der Kontrolltiere zurück. Während diese nach im Mittel 32 Tagen ein Durchschnittsgewicht von 255 g erreicht hatten, wogen die DOCA-lang-Tiere nach 38 Tagen erst 241 g im Mittel (Tab. 11).

2. Morphologie und Funktion der Nieren

Die Gewichte der rechten Niere waren bei den DOCA-NaCl-behandelten Tieren erheblich höher als bei der Kontrollgruppe. Während bei dieser eine Niere 0,37 % des Körpergewichtes wog, waren es bei den Tieren der DOCA-lang-Gruppe 0,85 % ($n = 5$).

Nieren aller drei Gruppen wurden lichtmikroskopisch untersucht. Die Nieren der DOCA-kurz-Gruppe unterschieden sich in H.E.- und VAN GIESON-Präparaten nicht von denen der Kontrolltiere. Sie zeigten eine normale Histologie. Dagegen waren bei den Tieren aus der DOCA-lang-Gruppe vaskuläre und glomeruläre Veränderungen im Sinne einer malignen Hypertonie zu beobachten:

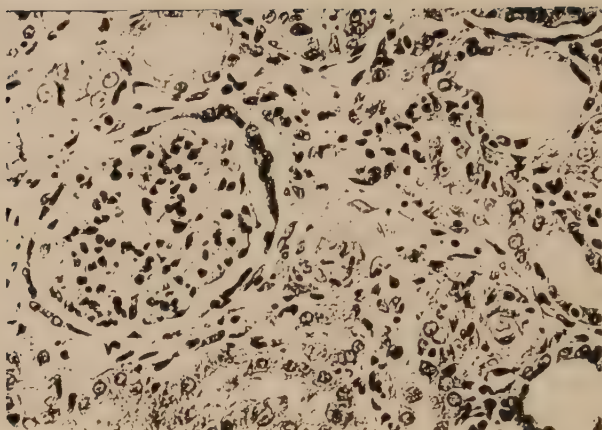


Fig. 2: Arteriöläre Wandhypertrophie bzw. -nekrose, noch normales Glomerulum bei DOCA-lang-Ratte (H.-E.)

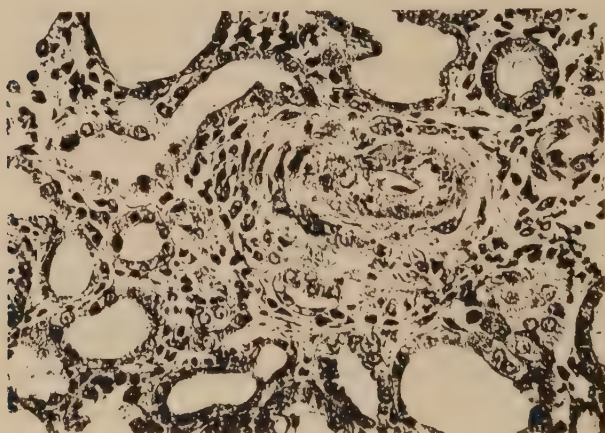


Fig. 3: Gefäßwandproliferation und -nekrose, intersti-
tielle Reaktion, hypertrophierte und dilatierte Tubuli
bei DOCA-lang-Ratte (H.-E.)

Bei Arteriolen und vasa afferentia fanden sich vereinzelte fibrinoide Gefäßwandnekrosen mit einer teils homogenen, teils granulären, eosinrot angefärbten und unscharf abgegrenzten Gefäßwand sowie pyknotische Kernfragmente und kleine Blutungen (Fig. 2). Daneben war eine meist konzentrische Proliferation von glatten Muskelzellen und adventitiellen Zellen vorhanden, welche auch bei den Arteriae interlobares zu sehen war (Fig. 3). Das Interstitium war gelegentlich fleckförmig ödematös aufgelockert und von wenigen Lymphozyten und einzelnen Granulozyten durchsetzt. Auch die Glomeruli zeigten hie und da segmentale fibrinoide Schlingennekrosen; teilweise war zu erkennen, daß sich diese direkt an fibrinoide Nekrosen des vas afferens anschlossen. Bei beiden DOCA-Gruppen waren die Tubuli hypertrophiert.

Als Maß für die glomeruläre Filtrationsrate wurden jeweils für die linke Niere die Inulin-Clearance C_{In} bestimmt. Sie betrug in der Kontrollgruppe im Mittel $0,48 \pm 0,15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g KG}^{-1}$. In beiden Gruppen unter DOCA-NaCl-Behandlung wurde eine um 40 % erniedrigte GFR ermittelt, nämlich $0,29 \pm 0,04$ (DOCA-kurz) bzw. $0,28 \pm 0,15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g KG}^{-1}$ (DOCA-lang).

Der Harn der DOCA-NaCl-behandelten Tiere war deutlich weniger konzentriert als der der Kontrollratten. Während die Harnosmolalität bei dieser Gruppe bei $1751 \pm 511 \text{ mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$ lag, betrug sie bei den DOCA-kurz-Tieren 664 ± 227 und bei

den langbehandelten $512 \pm 67 \text{ mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\pm$ SD); der Unterschied zur Kontrollgruppe ist trotz der großen Streuung jeweils signifikant ($2 P = 0,001$).

Bei 5 der DOCA-lang-Tiere wurde die exkretorische Nierenfunktion genauer untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Bei einem mittleren Körpergewicht von $262 \pm 9 \text{ g}$ ($\pm$ SD) war die Urin-Ausscheidung mit im Mittel $47,1 \pm 4,6 \text{ ml} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ auf das 4,5-fache der von Kontrolltieren erhöht. Die Tiere schieden im Mittel $4,79 \pm 0,76 \text{ mmol}$ Natrium, $3,25 \pm 0,21 \text{ mmol}$ Kalium und $4,11 \pm 0,49 \text{ mmol}$ Chlorid in 24 h aus. Die Kontrollwerte lauten $3,14 \pm 0,3 \text{ mmol Na}^+$, $1,3 \pm 0,1 \text{ mmol K}^+$ und $2,04 \pm 0,16 \text{ mmol Cl}^-$ ($n = 5$) (10). Entsprechend war die Urin-Osmolalität bei DOCA-lang-Tieren mit $531 \pm 31 \text{ mosmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ im 24-Stunden-Urin gegenüber einem Kontrollwert von $1593 \pm 224 \text{ mosmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (10) erniedrigt.

Tab. 10: Volumen- und Elektrolytexkretion im 24-h-Urin unter Kontrollbedingungen, bei diätetischer Kaliumverarmung (nach 10)) und in der DOCA-lang-Gruppe (Mittel $\pm$ SEM)

	n	Volumen	Na	K	Cl	Osm.
		ml		mmol		mosmol
Kontrolle	5	$11,2$ $\pm 1,2$	$3,14$ $\pm 0,3$	$1,3$ $\pm 0,1$	$2,04$ $\pm 0,2$	1593 ± 224
K ⁺ -verarmt	10	$44,3$ $\pm 4,5$	$2,35$ $\pm 0,25$	$0,08$ $\pm 0,02$	$1,72$ $\pm 0,16$	496 ± 49
DOCA-lang	5	$47,1$ $\pm 4,6$	$4,79$ $\pm 0,76$	$3,25$ $\pm 0,21$	$4,11$ $\pm 0,49$	531 ± 31

3. Plasma-Analysen

Die Ergebnisse der chemischen Analysen sind in Tabelle 11 und Figur 4 zusammengefaßt.

Die Plasma-Natriumkonzentration P_{Na^+} war in allen untersuchten Gruppen statistisch gesehen gleich. Sie betrug bei den Kontrolltieren $140,7 \pm 1,5$, bei den DOCA-kurz-Ratten $139,8 \pm 3,3$ und bei den DOCA-lang-Tieren $142,4 \pm 5,5$ mmol $\cdot$ l⁻¹.

Im Gegensatz dazu entwickelte sich bei den Tieren unter DOCA-NaCl-Behandlung eine deutliche Hypokaliämie. Bei einem Kontrollwert von $4,7 \pm 0,7$ mmol $\cdot$ l⁻¹ fiel die Plasma-Kaliumkonzentration P_{K^+} in der DOCA-kurz-Gruppe auf $3,6 \pm 0,6$ ($2 P < 0,05$) und in der DOCA-lang-Gruppe auf $2,9 \pm 0,8$ mmol $\cdot$ l⁻¹ ab ($2 P < 0,001$).

Die Bestimmung der Plasma-Chloridkonzentrationen P_{Cl^-} zeigte eine Tendenz zur Hypochlorämie: Während die P_{Cl^-} bei den Kontrolltieren $102,9 \pm 4,9$ mmol $\cdot$ l⁻¹ betrug, erreichte sie bei den kürzer behandelten Ratten nur $95,5 \pm 3,8$ ($2 P < 0,02$) und bei den länger behandelten $89,2 \pm 4,7$ mmol $\cdot$ l⁻¹ ($2 P < 0,001$). Auch der Unterschied zwischen den beiden DOCA-NaCl-behandelten Gruppen war signifikant ($2 P < 0,025$).

Die Plasma-Osmolalität P_{Osm} war in den drei untersuchten Gruppen statistisch nicht verschieden. Trotz eines leichten Anstiegs von einem Kontrollwert von $289,4 \pm 5,7$ auf $290,0 \pm 4,5$ bzw. $296,0 \pm 9,1$ mosmol $\cdot$ l⁻¹ blieben die Unterschiede nicht signifikant.

Tab. 11: Körpergewicht, Blutdruck und Ergebnisse der chemischen Analysen (Mittelwerte $\pm$ SD)

n	Plasma						Urin		GFR
	Dauer	KG	MAP	Na	K	Cl	Osm.	Osm.	
				mmol.l ⁻¹				mmol.l ⁻¹	
d	g	mmHg	mmol.l ⁻¹				mmol.l ⁻¹	ml min.100g	
Kontrolle 7	33,2 ±18	255 ±26	122 ±5,1	140,7 ±1,5	4,7 ±0,7	102,9 ±4,9	289,4 ±5,7	1751 ±511	0,48 ±0,15
DOCA-kurz 5	18,4 ±3,8	201 ±23	144 ±14,7	n.S. 139,8 ±3,3	3,6 ±0,6	95,5 ±3,8	n.S. 290,0 ±4,5	664 ±227	0,29 ±0,04
DOCA-lang 10	38,1 ±9,4	241 ±49	179 ±28,8	n.S. 142,4 ±5,5	2,9 ±0,8	89,2 ±4,7	n.S. 296,0 ±9,1	512 ±67	0,28 ±0,15

**** 2P < 0,001; **** 2P < 0,005; *** 2P < 0,025; ** 2P < 0,02; * 2P < 0,05; n.s. nicht signifikant.

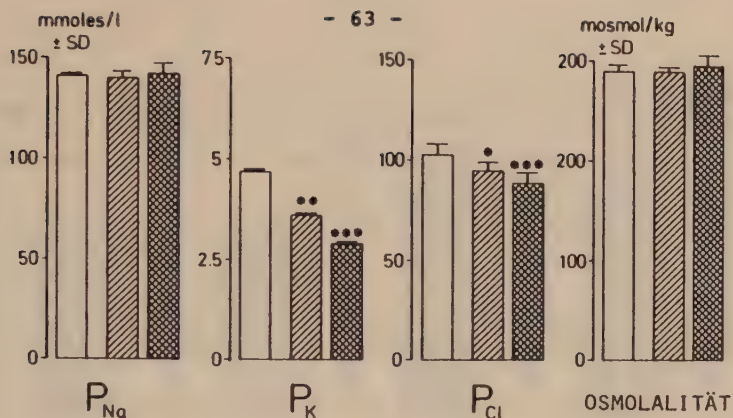


Fig. 4: Plasma-Elektrolytkonzentrationen und -Osmolalität

□ Kontrolle, ▨ DOCA-kurz, ▩ DOCA-lang

* $2P < 0,02$, ** $2P < 0,05$, *** $2P < 0,001$.

II. Intrazelluläre Elementkonzentrationen

In Tabelle 12 sowie Figuren 5 und 6 sind die intrazellulären Elementkonzentrationen und Trockengewichte zusammenfassend dargestellt, die in proximalen und distalen Nierentubuluszellen im Zellkern gemessen wurden.

1. Natrium

Die intrazellulären Natriumkonzentrationen $[Na]_i$ waren gegenüber der Kontrollgruppe signifikant ($2P < 0,001$) erhöht. Sie betrugen in der DOCA-lang-Gruppe im proximalen Tubulus $26,6 \pm 0,6 \text{ mmol} \cdot \text{kg FG}^{-1}$ (Mittelwerte + SEM) und im distalen Tubulus $20,2 \pm 1,0 \text{ mmol} \cdot \text{kg FG}^{-1}$ bei Kontrollwerten von $18,8 \pm 0,5$ bzw. $12,4 \pm 0,5 \text{ mmol} \cdot \text{kg FG}^{-1}$. Dies entspricht einem

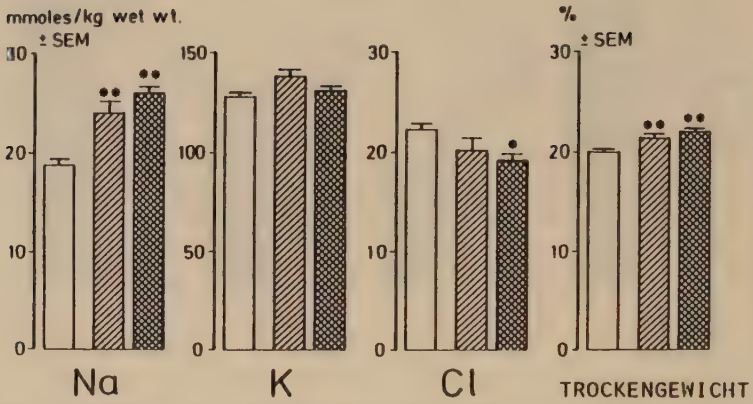


Fig. 5: Elektrolytkonzentrationen in proximalen Tubuluszellen

□ Kontrolle, ▨ DOCA-kurz, ▩ DOCA-lang;

* $2P < 0,005$, ** $2P < 0,001$.

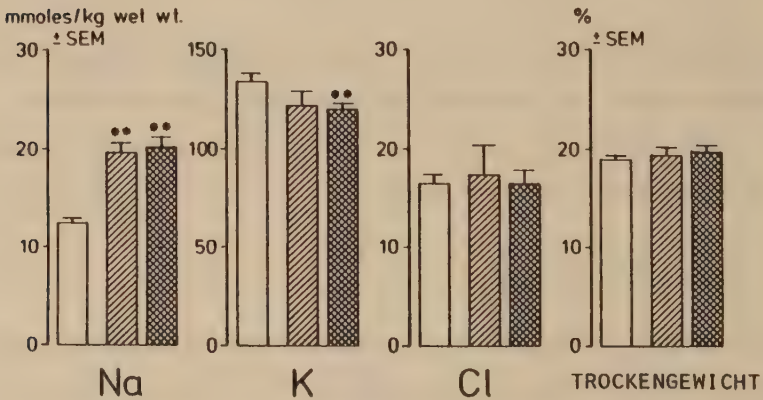


Fig. 6: Elektrolytkonzentrationen in distalen Tubuluszellen

Abkürzungen vgl. Fig. 5.

Anstieg um 38 % bzw. 63 %. Ähnliche, ebenso signifikante Anstiege von $[Na]_i$ wurden bei DOCA-kurz-Tieren gemessen.

2. Kalium

In den Zellen des proximalen Tubulus bestanden keine signifikanten Unterschiede der Kaliumkonzentrationen zwischen den einzelnen Gruppen. Im distalen Tubulus war eine Tendenz zu erniedrigten intrazellulären Kaliumkonzentrationen $[K]_i$ unter DOCA-NaCl-Behandlung festzustellen, die in der DOCA-lang-Gruppe deutlich signifikant war ($2 P < 0,001$). Hier betrug $[K]_i$ $119 \pm 5,5$ gegenüber $133,6 \pm 3,6$ mmol $\cdot$ kg FG⁻¹ in der Kontrollgruppe.

3. Chlor

Die Konzentrationen des Elementes Chlor $[Cl]_i$ sank in den proximalen Tubuluszellen unter der Mineralokortikoidbehandlung von $22,3 \pm 0,6$ auf $19,3 \pm 0,6$ mmol $\cdot$ kg FG⁻¹ in der DOCA-lang-Gruppe ($2 P < 0,005$) ab. In den Zellen des distalen Tubulus bestanden keine Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen.

4. Phospor

Die intrazellulären Phosphorkonzentrationen $[P]_i$ waren im proximalen Tubulus signifikant erhöht. $[P]_i$ betrug bei einem Kontrollwert von $134,9 \pm 3,1$ für die DOCA-kurz-Gruppe

Tab. 12: Intrazelluläre Elementkonzentrationen (Mittelwerte $\pm$ SEM)

a. proximale Tubuli						
n	m	Na	K	Cl	P	TG
		mmol·kg Feuchtgewicht ⁻¹				g
Kontrolle	7	18,8 $\pm 0,5$	128,3 $\pm 2,3$	22,3 $\pm 0,6$	134,9 $\pm 3,1$	20,0 $\pm 0,3$
DOCA-kurz	5	24,1** $\pm 1,2$	137,9 ns $\pm 3,3$	20,2 ns $\pm 1,3$	154,5* $\pm 3,6$	21,5** $\pm 0,4$
DOCA-lang	10	26,0** $\pm 0,6$	131,0 ns $\pm 2,3$	19,3* $\pm 0,6$	146,5** $\pm 2,4$	21,9** $\pm 0,3$
b. distale Tubuli						
Kontrolle	4	12,4 $\pm 0,5$	133,6 $\pm 3,6$	16,5 $\pm 0,9$	173,8 $\pm 5,0$	19,0 $\pm 0,4$
DOCA-kurz	3	19,6** $\pm 1,0$	121,7 ns $\pm 7,0$	17,3 ns $\pm 3,1$	183,3 ns $\pm 10,7$	19,4 ns $\pm 0,8$
DOCA-lang	10	20,2** $\pm 1,0$	119,7** $\pm 5,5$	16,5 ns $\pm 1,4$	193,9 ns $\pm 31,5$	19,8 ns $\pm 0,6$

** $2p < 0,001$; * $2p < 0,005$; ns nicht signifikant; n Anzahl Tiere; m Anzahl Einzelmessungen.

154,5 $\pm$ 3,6 (2 P < 0,005) und für die DOCA-lang-Tiere 146,5 $\pm$ 2,4 mmol $\cdot$ kg FG⁻¹ (2 P < 0,001). Auch in den Zellen des distalen Tubulus waren ähnliche Anstiege von $[P]_i$ zu beobachten, die wegen der großen Streuung unterhalb des Signifikanzniveaus blieben.

5. Trockengewicht

In den proximalen Tubuluszellen kam es nach DOCA-Kochsalzbehandlung zu signifikanten (2 P < 0,001) Veränderungen der Trockengewichte. Sie stiegen von einem Kontrollwert von 20,0 $\pm$ 0,3 auf 21,5 $\pm$ 0,4 bei den DOCA-kurz- bzw. 21,9 $\pm$ 0,3 % des Feuchtgewichtes bei den DOCA-lang-Tieren an. In den Zellkernen des distalen Tubulus waren die Trockengewichte minim angestiegen, ohne daß die Unterschiede statistisch signifikant wurden.

6. Abhängigkeit einzelner Ergebnisse voneinander

Bei Regressionsanalysen zeigte sich keine signifikante Abhängigkeit der Elementkonzentrationen von der Behandlungsdauer oder der Höhe des arteriellen Mitteldruckes bei den DOCA-NaCl-behandelten Tieren (n = 15). Auch zwischen Natrium- und Kaliumkonzentrationen bestand keine signifikante Korrelation. In Tabelle 13 sind die entsprechenden Regressionskonstanten r für eine Linearfunktion $y = f(x) = a + mx$ wiedergegeben.

Tab. 13: Regressionsanalyse für $y = f(x) = a + mx$

x	y	r	
		prox.	dist.
MAP	$[Na]_i$	0,209	0,040
d	$[Na]_i$	0,161	0,014
MAP	$[K]_i$	-0,241	-0,262
d	$[K]_i$	-0,239	-0,150
Na _i	$[K]_i$	-0,176	0,065

x Variable, y Linearfunktion, r Regressionskonstante, d Behandlungsdauer, MAP art. Mitteldruck.

F. DISKUSSION

I. Morphologie und funktionelle Veränderungen

Die Behandlung mit DOCA in hoher Dosierung und 1 %iger Kochsalzlösung über mehrere Wochen hinweg bedeutet einen schweren Eingriff in das physiologische Gleichgewicht der Versuchstiere.

1. Blutdruckentwicklung und Körpergewicht

Zum Zeitpunkt der Präparation hatten alle DOCA-Tiere einen deutlich erhöhten arteriellen Blutdruck. Wie aus Figur 1 ersichtlich, bestand in dem untersuchten Bereich (14 bis 49 Behandlungstage) eine lineare Abhängigkeit zwischen der Höhe des arteriellen Mitteldruckes und der Dauer der DOCA-Kochsalz-Behandlung.

Vergleichbare Untersuchungen an - zusätzlich einseitig nephrektomierten - Ratten zeigten einen ähnlichen Verlauf mit Blutdruckanstieg bereits nach der ersten Woche und einem Blutdruckmaximum von 187 mm Hg in der vierten Woche der DOCA-Kochsalz-Behandlung. Die Plasma-Renin-Spiegel blieben auch noch nach 8 Wochen supprimiert, so daß das Renin-Angiotensin-System, trotz histologischer Veränderungen im Sinne einer malignen Hypertonie, nicht für die Blutdruckserhöhung verantwortlich gemacht werden konnte (81).

Das Wachstum der DOCA-Salz-Ratten blieb hinter dem der Kon-

trolltiere deutlich zurück. Dagegen kam es zur Hypertrophie der Nieren, die in der DOCA-lang-Gruppe je 0,85 %, in der unbehandelten Gruppe nur 0,37 % der Körpermasse ausmachten.

2. Morphologie der Nieren

In den Nieren der DOCA-lang-Tiere waren bereits histologische Veränderungen im Sinne einer malignen Hypertonie zu beobachten (Fig. 2 und 3). Endothelproliferation, Hypertrophie der tunica media der Arterien und Arteriolen, Lumeneinengungen und fleckförmige fibrinoide Gefäßwandnekrosen kennzeichnen auch die maligne arterioläre Nephrosklerose des Menschen. Die fibrinoiden Nekrosen können sich hier, wie bei den DOCA-lang-Tieren, von der afferenten Arteriole bis in das glomeruläre Gefäßknäuel hinein erstrecken und zum vereinzelten Untergang von Glomeruli führen (1, 24). Es besteht ein Nebeneinander normaler und arteriolosklerotischer Bezirke (24).

Es ist bekannt, daß die Läsionen bei der sekundären malignen Nephrosklerose des Menschen denen bei DOCA-Kochsalz-induzierter Hypertonie der Ratte sehr ähneln, wobei bei letzterem Modell dem Renin-Angiotensin-System keine kausale Rolle zugeschrieben wird (1, 81).

Die Tiere der DOCA-kurz-Gruppe zeigten bei einem Blutdruck von $144 \pm 14,7$ mm Hg ($\text{MAP} \pm \text{SD}$) keine lichtmikroskopisch sichtbaren Veränderungen der Niere. Es besteht jedoch kein Zweifel daran, daß auch bei ihnen eine manifeste Hypertonie

vorlag. Die morphologischen Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen repräsentieren also offenbar zweierlei Stadien innerhalb der kontinuierlichen Entwicklung des Bluthochdrucks, der eine Funktion der Behandlungsdauer ist (Fig. 1). Bei den DOCA-lang-Tieren liegen Veränderungen vor, die der beginnenden malignen Nephrosklerose des Menschen entsprechen.

Dennoch finden sich, wie die Ergebnisse deutlich machen, keine wesentlichen Unterschiede zwischen der DOCA-lang- und der DOCA-kurz-Gruppe bezüglich der Nierenfunktion und der zellulären Elektrolytkonzentrationen.

3. Nierenfunktion

a) Glomeruläre Filtrationsrate. Im Gegensatz zur Kontrollgruppe, bei der die glomeruläre Filtrationsrate GFR je Niere $0,48 \pm 0,15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g KG}^{-1}$ (GFR $\pm$ SD) betrug, zeigten DOCA-kurz- und DOCA-lang-Tiere eine deutlich verminderte GFR von $0,29 \pm 0,04$ bzw. $0,28 \pm 0,15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ k KG}^{-1}$. Wegen der großen Streuung unterscheidet sich letzterer Wert statistisch allerdings nicht vom Kontrollwert. Die Ursache für die verminderte GFR ist unklar. Zwar geht eine fortgeschrittene maligne arterioläre Nephrosklerose mit einer Verminderung der GFR einher (1); die beobachteten histologischen Veränderungen bei den DOCA-lang-Tieren und der Unterschied in den GFR ließen sich jedoch nicht sicher miteinander korrelieren. Nach einem identischen Protokoll zur Be-

stimmung der Inulin-Clearance betrug die GFR bei Kontrollratten gemäß einer Arbeit von BECK und Mitarbeitern $0,34 \pm 0,03 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g KG}^{-1}$ (10); dieser Wert liegt sehr nahe bei dem hier für die DOCA-Tiere ermittelten.

b) Exkretorische Funktion. Die DOCA-Kochsalz-behandelten Tiere schieden große Mengen wenig konzentrierten Harnes aus. Die Osmolalität des Sammelurins betrug nur $512 \pm 67 \text{ mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$ gegenüber $1751 \pm 511 \text{ mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\pm$ SD) bei den Kontrolltieren. Das von den hierauf untersuchten DOCA-lang-Tieren in 24 Stunden ausgeschiedene Harnvolumen entsprach 18 % der Körpermasse. Pro Tag und 100 g Körpergewicht wurden 1,83 mmol Natrium und 1,57 mmol Chlorid ausgeschieden. Umgerechnet auf einen Menschen von 70 kg Körpergewicht würde dies einem täglichen Harnvolumen von 12,6 l und einer Menge von 1,28 mol Natrium und 1,1 mol Chlorid entsprechen, also über 60 g Kochsalz. Wenn eine derartige Extrapolation auch nicht ohne weiteres zulässig ist, so zeigt sie doch eindrucksvoll, daß die Tiere unter einer exzessiven chronischen Kochsalz- und Volumenbelastung standen und die Mechanismen zur Natrium- und Wasser-Exkretion erheblich stimuliert sein mußten. Weiterhin steht außer Zweifel, daß sich die Tiere zu diesem Zeitpunkt längst im Zustand des Mineralokortikoid-"escape" befanden, daß also Natrium- und Wasser-Bilanzen trotz der exzessiven DOCA-Zufuhr ausgeglichen waren. Zwar ist die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Pumpe unter dem Einfluß des Mineralokortikoids wei-

terhin stimuliert und sorgt für eine vermehrte Kaliumsekretion; aber es kommt zu keiner weiteren Akkumulation von Natrium, sondern zur Natriurese und Diurese (26, 96, 115).

In welchem Nephronabschnitt und durch welchen Mechanismus diese verminderte Natrium-Rückresorption im "escape" zum Tragen kommt, ist nicht ganz klar. Unter verschiedenen denkbaren Ursachen spricht viel für eine reflektorische Abnahme der adrenergen Aktivität in der Niere, aber auch für den Einfluß eines natriuretischen Faktors (115).

4. Plasma-Elektrolytkonzentrationen

a) Plasma-Kalium- und -Chloridkonzentration. Hyperaldosteronismus oder langdauernde Verabreichung von Mineralokortikoiden führen bekanntlich zu Kaliurese, Hypokaliämie und Kaliumverarmung sowie zu einer hypochlorämischen metabolischen Alkalose. Dieser Effekt wird durch Kochsalzgabe noch verstärkt (119).

Dementsprechend zeigten sowohl die DOCA-kurz- wie die DOCA-lang-Tiere einen signifikanten Abfall der Plasma-Kalium- und der Plasma-Chloridkonzentrationen gegenüber der Kontrolle. Figur 13 (siehe Seite 95) gibt eine Gegenüberstellung von DOCA-lang-Ratten und vergleichbaren 2 bis 3 Wochen lang streng kaliumarm ernährten SPRAGUE-DAWLEY-Ratten. Die Daten stammen von BECK und Mitarbeitern (10). Unter beiden Bedingungen sinken die Konzentrationen von Kalium und Chlorid im

Plasma signifikant ab. Der Abfall von P_K^+ ist bei den DOCA-Kochsalz-behandelten Tieren jedoch nicht so ausgeprägt (-32 % gegenüber -55 %). P_{Cl^-} ist stärker gesunken (-13 % gegenüber -5 %), wie es aufgrund der verminderten Chloridresorption im proximalen Tubulus, in der HENLEschen Schleife und im Sammelrohr zu erwarten ist (119).

Der prinzipielle Unterschied zwischen diätetisch und durch Mineralokortikoidwirkung kaliumverarmten Tieren drückt sich in der Menge des ausgeschiedenen Kaliums aus: Bei ersteren betrug die K^+ -Exkretion $0,08 \pm 0,02 \text{ mmol} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ ($\pm$ SD) (10), bei den DOCA-lang-Tieren $3,25 \pm 0,5 \text{ mmol} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$, also das 40-fache.

Beim Vergleich zwischen DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratten und Tieren mit diätetischer Kaliumverarmung wird man daher berücksichtigen müssen, daß der Kaliummangel bei diesen auf einer verminderten Zufuhr, bei jenen aber auf einer gesteigerten Kaliurese beruht.

b) Plasma-Natriumkonzentration. Die Plasma-Natriumkonzentration P_{Na^+} , das Extrazellulärvolumen ECV und das austauschbare Natrium Na_e^+ sind bei Patienten mit unkomplizierter, essentieller und renaler Hypertonie normal (98, 159). Bei Patienten mit Hyperaldosteronismus sind P_{Na^+} und ECV leicht, allerdings statistisch nicht signifikant, erhöht. Na_e^+ liegt deutlich über Kontrollwerten (35) und ist von der Höhe des arteriellen Blutdruckes abhängig (47). Die Behandlung mit

DOCA und Kochsalz führte bei den DOCA-lang-Ratten zu einem minimalen Anstieg von P_{Na^+} um 2 %, der insignifikant blieb. Auch hier geht der Blutdruckanstieg mit einer Zunahme von Na_e^+ um 28 % einher (132). Es ist interessant, daß auch spontan hypertensive Ratten des SHR- und des MHS-Stammes eine derartige Tendenz zu erhöhten Plasma-Natriumkonzentrationen aufweisen (11, 12), wie in Figur 7 dargestellt ist.

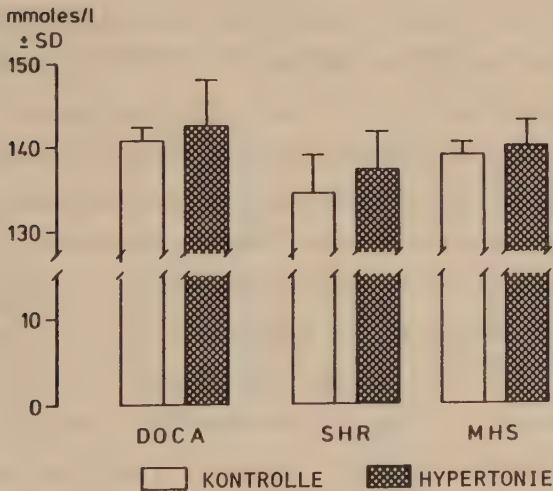


Fig. 7: Plasma-Natriumkonzentrationen bei hypertensiven Ratten

Eindeutige Konsequenzen lassen sich aus statistischen Gründen aus dieser Beobachtung nicht ziehen.

II. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen

1. Vergleichbarkeit der Ergebnisse

Um die Validität der eigenen Meßwerte besser einschätzen zu können, sind dieselben in den Tabellen, 14, 15 und 16 den Angaben anderer Autoren über die Elektrolytzusammensetzung von Tubuluszellen unter Kontrollbedingungen gegenübergestellt.

Es muß vorab betont werden, daß die mit der Elektronenstrahl-Mikroanalyse gewonnenen Meßwerte sich auf die Elementkonzentrationen im Bereich des Zellkernes beziehen. Untersuchungen von BECK und Mitarbeitern (9) haben gezeigt, daß innerhalb des Zytoplasmas charakteristische Konzentrationsunterschiede bestehen: z.B. im Bereich der basolateralen Einfältelungen und des Bürstensaumes, wo extrazelluläre Elektrolyte am meisten zu den Meßwerten beitragen können, ergeben sich niedrigere Kalium- sowie höhere Natrium- und Chloridkonzentrationen als im perinukleären Zytoplasma. Die perinukleär gemessenen Konzentrationen von Natrium und Kalium sind unter Kontrollbedingungen praktisch gleich denjenigen, die man innerhalb des Kernes findet. Die Kernmembran setzt der Verteilung dieser Ionen offenbar keine wirksame Schranke entgegen, wie sich auch bei Messungen an der Froschhaut und der Krötenblase bestätigt hat (153, 154).

a) Chemische Methoden. In Tabelle 14 sind Natrium-, Kalium- und Chloridkonzentrationen aufgeführt, wie sie bisher auf chemischem und radiochemischem Wege in der Nierenrinde von Ratten bestimmt worden sind. Mit Ausnahme einer Arbeit, in der der Anteil des extrazellulären Raumes morphometrisch bestimmt wurde (21), liegen die chemisch ermittelten Natriumkonzentrationen erheblich höher als die mit der Elektronenstrahl-Mikroanalyse gemessenen Werte (30, 131). Umgekehrt liegen die Kaliumkonzentrationen deutlich niedriger, wenn sie auf chemischem Wege bestimmt wurden (21, 30, 109, 127, 131).

Tab. 14: Chemische Bestimmung intrazellulärer Elektrolytkonzentrationen im Vergleich zu Messungen mittels EMA

Zelltyp	Na	K	Cl	Quelle
	mmol·l Zellwasser ⁻¹			
GG	4-15	125-135		(21)
KT	65	122		(30)
PT		136		(111)
GG		147		(127)
GG	60	140		(131)
PT	23,5	160,4	27,9	vorliegende Daten (EMA)
DT	15,3	164,9	24,1	

PT proximaler Tubulus, DT distaler Tubulus, KT kortikaler Tubulus, GG Gesamtgewebe, EMA Elektronenstrahl-Mikroanalyse

Alle Artefakte, die bei der Präparation des Gewebes für die Elektronenstrahl-Mikroanalyse denkbar sind, müßten zu einer Verminderung der Konzentrationsgradienten zwischen extra- und intrazellulärem Kompartiment führen. Je höher die intrazelluläre Konzentration von Kalium und je niedriger die von Natrium gemessen werden, desto weniger weicht das Meßergebnis von den tatsächlichen Verhältnissen ab.

Wie bereits erwähnt, kränken chemische Methoden auch daran, daß der zur Kalkulation intrazellulärer Konzentrationen erforderliche Wert für den extrazellulären Volumenanteil oft unterschätzt wird. Das häufig als Marker verwendete Inulin (21, 30, 109, 127, 131) breitet sich wohl innerhalb des extrazellulären Wassers aus, nicht aber in dem Volumenanteil, der durch die feste extrazelluläre Bindegewebsmatrix eingenommen wird. Nimmt man den extrazellulären Raum mit seiner hohen Natrium- und niedrigen Kaliumkonzentration als zu klein an, so errechnen sich bei chemischen Analysen des Gesamtgewebes auch zu hohe Natrium- bzw. zu niedrige Kaliumkonzentrationen für das intrazelluläre Kompartiment.

b) Ionenselektive Elektroden. Die Bestimmung zellulärer Elektolytaktivitäten mittels ionenselektiver Mikroelektroden und die von Elementkonzentrationen mittels der Elektronenstrahl-Mikroanalyse lassen sich nicht ohne weiteres miteinander vergleichen. Es ist nicht genau bekannt, welche Aktivitätskoeffizienten die Ionen in der Zelle besitzen. Beim Vergleich der in Tabelle 15 wiedergegebenen Daten fällt immerhin auf,

Tab. 15: Bestimmung intrazellulärer Elektrolytkonzentrationen mittels ionenselektiver Mikroelektroden

Zelltyp	Na	K	Cl	Quelle
	mmol·l Zellwasser ⁻¹			
PT		65,9		(34)
PT		82		(61)
PT		54,4		(111)
DT	16,4	46,5	42,3	(108,109,110)

Abkürzungen vgl. Tab. 14.

daß mit ionenselektiven Elektroden $[K]_i$ stets erheblich niedriger und $[Cl]_i$ deutlich höher bestimmt wurden als mit der Elektronenstrahl-Mikroanalyse (34, 61, 108 - 111). Insbesondere die erhöhten Chloridwerte können nicht durch einen unbekannten Aktivitätskoeffizienten erklärt werden, da die Elektronenstrahl-Mikroanalyse bereits die gesamte Elementkonzentration erfaßt. Ein wesentliches methodisches Problem liegt also darin, daß bei der Punktion der Zellmembran eine Undichtigkeit zwischen Membran und Elektroden entsteht, die dazu führt, daß sich die transmembranalen Gradienten teilweise ausgleichen. Dies könnte die niedrigen Kalium- und hohen Chloridaktivitäten bei Messungen mit ionenselektiven Elektroden erklären.

c) Elektronenstrahl-Mikroanalyse. Schließlich sind in Tabelle 16 Daten zusammengestellt, die bisher mit Hilfe der Elektronenstrahl-Mikroanalyse gewonnen wurden. Die eigenen Meßwerte stimmen mit den von DENECKE (48), BECK (10) und DOTZEL ((53) am hiesigen Physiologischen Institut ermittelten Werten gut überein. DOTZEL hat, im Unterschied zu der hier vorliegenden Arbeit und den Untersuchungen von BECK und DENECKE,

Tab. 16: Bestimmung intrazellulärer Elektrolytkonzentrationen mittels EMA

Zelltyp	Na	K	Cl	Quelle
	mmol · kg Feuchtgewicht ⁻¹			
PT	84	112	14	) (117)
DT	63	81	2-3	
PT	55	125		(82)
PT	19,6	144,4	22,8	) (10)
DT	11,4	143,3	12,5	
PT	20,1	123,9	21,1	) (48)
DT	8,9	132,6	10,5	
PT	18,5	133,4	18,3	) (53)
DT	12,8	155,2	26,4	
PT	18,8	128,3	22,3	vorliegende Daten
DT	12,4	133,6	16,5	

Abkürzungen vgl. Tab. 14.

Biopsiezylinder untersucht, die auch tiefer gelegene Nierenstrukturen enthielten. Die dabei ermittelten hohen Chloridkonzentrationen für distale Tubuluszellen sind damit zu erklären, daß mehr tiefer gelegene Tubuli analysiert wurden, welche höhere Werte für $[Cl]_i$ aufweisen als oberflächliche. Die bei der vorliegenden Untersuchung ermittelten Werte von $[K]_i$ für proximale Tubuluszellen stimmen gut mit denen von DENECKE (48) und DOTZEL (53) überein, liegen aber unter den von BECK und Mitarbeitern (10) gemessenen. Es erscheint jedoch als unwahrscheinlich, daß diese leichte Diskrepanz durch eine besondere Schädigung bedingt ist, da der bei derartigen Artefakten zu erwartende Anstieg von $[Na]_i$ nicht vorhanden ist; die Natriumkonzentrationen stimmen hervorragend überein.

Ältere Untersuchungen mit der Elektronenstrahl-Mikroanalyse (82) liefern durchweg höhere Natrium- und niedrigere Kalium- und Chloridkonzentrationen. Der Grund dafür liegt vermutlich in prinzipiellen methodischen Unterschieden zur vorliegenden Arbeit. KRIZ und Mitarbeiter (117) arbeiteten mit größeren Schnittdicken, einer höheren Schneidetemperatur und einem wellenlängendispersiven Detektorsystem. Ebenso wie GEHRING und Mitarbeiter (82), die ebenfalls höhere Schneidetemperaturen verwendeten, benützten sie einen externen Standard.

2. Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen bei Hypertonie

Wie oben bereits dargestellt, stimmen zahlreiche, wenn auch nicht alle (11), Arbeiten dahingehend überein, daß die zellulären Natriumkonzentrationen bei der essentiellen Hypertonie des Menschen, beim M. CONN und bei genetisch determinierten und experimentell induzierten Hypertonieformen bei der Ratte erhöht sind (vgl. Tab. 1, 2, 3 und 4).

Diese Befunde gehen insbesondere auf Elektrolytbestimmungen an Gewebshomogenisaten von Arterien und an Blutkörperchen zurück. Die letzteren eignen sich besonders, weil sie - auch beim Menschen - leicht zugänglich sind und weil die Messungen, bei allen Einschränkungen (163), relativ genau sind. Erstere sind deshalb von Interesse, weil einer Störung des Natriumhaushaltes der glatten Muskulatur der Widerstandsgefäße eine kausale Rolle für die Entstehung der Hypertonie zugesprochen werden kann (16, 17), wie oben bereits ausführlich dargestellt. Die Bestimmung von intrazellulären Konzentrationen in der Muskulatur der Widerstandsgefäße stößt allerdings auf erhebliche Schwierigkeiten.

Veränderungen der Elektrolyttransporteigenschaften verschiedener Nierentubulusabschnitte gehen häufig mit Veränderungen des intrazellulären Elektrolytmusters einher. In der vorliegenden Arbeit werden die Elektrolytkonzentrationen proximaler und distaler Tubuluszellen bei Ratten mit Mineralokortikoidhochdruck im "escape"-Stadium untersucht.

BECK und Mitarbeiter (11) bestimmten ebenfalls mit Hilfe der Elektronenstrahl-Mikroanalyse die Elektrolytkonzentrationen in kortikalen Nierenzellen von spontan hypertensiven Ratten des SHR- und des MHS-Stammes. Bei den SHR-Tieren waren die Natriumkonzentrationen $[Na]_i$ in den Zellen des proximalen und distalen Konvolutes gegenüber WYK-Kontrolltieren signifikant erhöht, bei den MHS-Ratten war $[Na]_i$ im proximalen Tubulus im Vergleich zur Kontrolle niedriger. Keine Unterschiede bestanden hinsichtlich der Plasma-Natrium- und -Kalium- sowie der intrazellulären Kaliumkonzentrationen. Die Autoren nehmen an, daß veränderte Natrium-Transporteigenschaften am Tubulusepithel für eine vermehrte Flüssigkeitsabsorption und damit Volumenexpansion verantwortlich seien. Die erniedrigte Natriumkonzentration in proximalen Tubuluszellen von MHS-Ratten könnte Ausdruck eines gesteigerten Na^+ -Transportes über die basolaterale Membran sein. Dagegen sprechen die erhöhten Werte für $[Na]_i$ im proximalen und distalen Konvolut bei den SHR-Tieren für einen gesteigerten Na^+ -Einstrom über die luminale Tubuluszellmembran. Die intrazellulären Natriumkonzentrationen bei SHR- und MHS-Ratten sind in Figur 8 denen bei DOCA-lang-Tieren gegenübergestellt. Die Veränderungen unter Mineralokortikoid- und Kochsalz-Behandlung entsprechen den Verhältnissen bei SHR-Tieren, wobei die Meßdaten quantitativ vergleichbar sind. Ein Anstieg von $[Na]_i$ könnte auch bei den DOCA-Kochsalz-behandelten Tieren Ausdruck eines erhöhten Einstroms von Natriumionen über die luminale

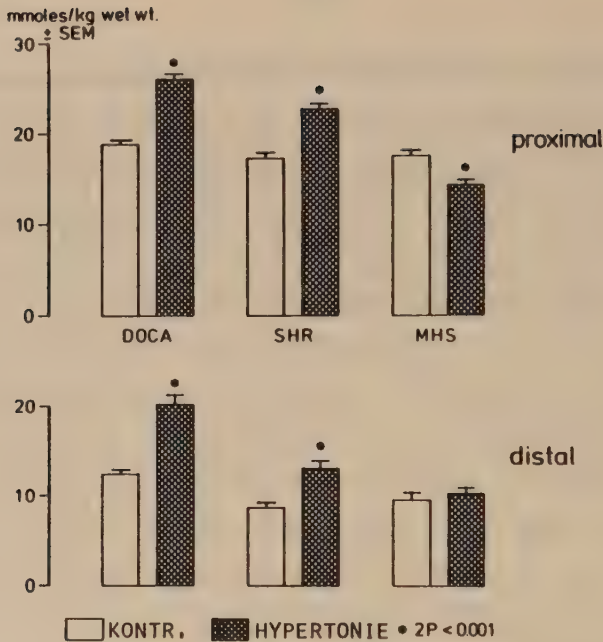


Fig. 8: Intrazelluläre Natriumkonzentration in Tubuluszellen hypertensiver Ratten.

Zellmembran sein. Ebenso gut könnte eine Hemmung des aktiven Na^+ -Auswärtstransports $[\text{Na}]_i$ ansteigen lassen.

Mithin besteht eine Parallelität hinsichtlich der intrazellulären Natriumkonzentrationen in Tubuluszellen von SHR- und DOCA-Kochsalz-Ratten.

DUHM, GÖBEL und BECK fanden signifikant erhöhte Natriumkonzentrationen in Erythrozyten von Ratten, die nach einem identischen Protokoll wie die hier beschriebenen DOCA-lang-Tiere

behandelt worden waren (58). Diese Übereinstimmung ist aus Figur 9 ersichtlich. Auch Erythrozyten von SHR-Tieren weisen eine erhöhte zelluläre Natriumkonzentration auf (Tab. 3) (13, 67, 134, 184), während bei MHS-Ratten $[Na]_i$ abfiel (68). Auch die Untersuchung menschlicher Erythrozyten bei essentieller Hypertonie zeigte keine einheitlich erhöhten Werte für $[Na]_i$ (Tab. 1) (56, 174).

Es kann daher bezweifelt werden, daß eine Messung der erythrozytären Natriumkonzentration bei allen Formen der Hypertonie einen Rückschluß auf das Geschehen in anderen Zellen des Organismus erlaubt. Für das Modell der Mineralokortikoid-induzierten Hypertonie der Ratte sowie für SHR-Tiere besteht aber eine klare Assoziation zwischen den Befunden an Erythrozyten und an der Nierentubuluszelle.

Eigene Untersuchungen mittels der EMA an Hepatozyten von DOCA- Kochsalz-hypertensiven Ratten zeigten keinen Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration (Fig. 9) (25). Die Leberzelle mag zwar selbst kein repräsentativer Zelltypus sein. Die Hypothese aber, daß der Anstieg von $[Na]_i$ ein ubiquitäres Phänomen sei, das als Ausdruck einer generalisierten Störung des Elektrolythaushaltes (57, 167) in allen Zellen des hypertensiven Organismus auftrete, muß verneint werden.

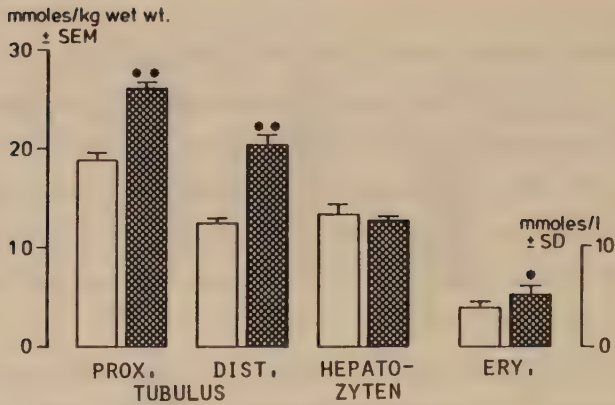


Fig. 9: Intrazelluläre Natriumkonzentration in verschiedenen Zelltypen DOCA-Kochsalz-hypertensiver Ratten

□ Kontrolle, ■ DOCA-lang

* $2P < 0,01$, ** $2P < 0,001$.

Die Tatsache, daß $[Na]_i$ nicht in allen Zelltypen bei arterieller Hypertonie ansteigt, die Beobachtung, daß ein Anstieg bei einigen Modellen ganz fehlt und die Erkenntnis, daß es unter anderen Versuchsbedingungen wie diätetischem Kaliummangel ebenfalls zu einer Zunahme der intrazellulären Natriumkonzentration kommen kann, belegen, daß erhöhte zelluläre Natriumkonzentrationen und das Auftreten eines erhöhten Blutdrucks nicht eo ipso miteinander korreliert sein müssen. Dennoch geben die in der vorliegenden Untersuchung zitierten Arbeiten vielfache Hinweise darauf, daß das Natriumion in der Ätiologie der Hypertonie eine Rolle spielt. Die eigenen Befunde zeigen deutlich, daß sich

bei dem Modell der Mineralokortikoid-induzierten Hypertonie der Ratte die Elektrolytkonzentrationen proximaler und distaler Nierentubuluszellen spezifisch verändern. Diese Beobachtung weist darauf hin, daß der Niere in der Entstehung der Hypertonie eine eigene Rolle zukommt (14, 15, 71).

3. Ionentransportsysteme

Veränderungen der Elektrolytkonzentrationen in Nierentubuluszellen sind ein Ausdruck dafür, daß eine Veränderung im Transport der betreffenden Ionen über die apikale bzw. die basolaterale Zellmembran stattgefunden hat (10, 130).

a) $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe und passive Permeabilität. Dem einfachsten Modell zufolge wird Na^+ in einem passiven und einem aktiven Schritt über die Tubulusepithelzelle hinweg transportiert. Dem elektrochemischen Gradienten folgend diffundieren Natriumionen aus der Tubulusflüssigkeit durch die luminale Membran ins Zellinnere. Die ATP-abhängige $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe an der basolateralen Seite bewirkt in Abhängigkeit von $[\text{Na}]_i$ den Natrium-Efflux aus der Zelle in den peritubulären Raum.

Ein Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration $[\text{Na}]_i$ kann sowohl durch eine erhöhte Permeabilität der luminalen Membran als auch durch eine verminderte Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe bedingt sein. Aus Beobachtungen am kortikalen Sammelrohr (54, 65, 129, 141) sowie seinem Analogon, der Krö-

tenblase (143), geht hervor, daß Mineralokortikoide ihre natriumretinierende Wirkung zunächst über eine Steigerung der luminalen Natrium-Permeabilität entfalten. Dadurch steigt $[Na]_i$ und die Na^+-K^+ -ATPase wird stimuliert. Auch am proximalen Tubulus führt DOCA zu einer erhöhten Natriumresorption (96, 113). Die Behandlung mit DOCA könnte also den Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration dadurch bewirken, daß die Permeabilität der apikalen Zellmembran zunimmt. Eine Erhöhung der passiven Membranpermeabilität für Na^+ wurde von DUHM und Mitarbeitern beim identischen Modell für den Erythrozyten beschrieben (58). Auch bei spontan hypertensiven Ratten des SHR-Stammes fanden sich derartige Veränderungen an Erythrozyten (76, 150) und an der Gefäßmuskulatur (75) (Tab. 6). Bei Patienten mit essentieller Hypertonie wurde eine Erhöhung der erythrozytären Membranpermeabilität für Natriumionen festgestellt (67, 150, 179, 181) (Tab. 6).

Die Tatsache, daß $[Na]_i$ in den Tubuluszellen DOCA-hypertensiver Ratten erhöht ist, läßt sich also mit einer Steigerung der luminalen Permeabilität für dieses Ion erklären. Wegen des chronischen Mineralokortikoideinflusses und des Anstiegs von $[Na]_i$ ist dabei zunächst eine Aktivierung der Na^+-K^+ -ATPase anzunehmen. An gewaschenen Erythrozyten von DOCA-Ratten fanden DUHM und Mitarbeiter eine Steigerung des Ouabain-abhängigen Na^+ -Auswärtstransports um über 40 % (58). Auch andere in-vitro-Untersuchungen zeigten eine erhöhte Aktivität dieses Systems bei Hypertonie (Tab. 5). Diese Be-

obachtungen wären die Folge des verstärkten Natriumeinstromes.

Ein Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration um bis zu $7,2 \text{ mmol} \cdot \text{kg Feuchtgewicht}^{-1}$, d.h. um bis zum 63 %, würde allerdings bedeuten, daß die Anpassungsfähigkeit der $\text{Na}^+ \text{--} \text{K}^+$ -Pumpe nicht dazu ausreicht, um die intrazelluläre Homöostase der Tubuluszelle aufrechtzuerhalten. Eine Akzentuierung des Anstieges von $[\text{Na}]_i$ würde man jedoch dann erwarten, wenn die basolateral gelegene $\text{Na}^+ \text{--} \text{K}^+$ -ATPase durch einen Plasmafaktor mit Ouabain-artigen Eigenschaften inhibiert würde.

b) Natriuretischer Faktor. Der Mineralokortikoidismus ist der klassische Fall, für den die Ausschüttung eines natriuretischen Faktors gefordert wird (116, 125, 126, 176). Er soll die $\text{Na}^+ \text{--} \text{K}^+$ -Pumpe hemmen und somit die tubuläre Natriumrückresorption vermindern, um das vergrößerte Extrazellulärvolumen ECV zu normalisieren.

Diese Möglichkeit einer verminderten Aktivität der $\text{Na}^+ \text{--} \text{K}^+$ -ATPase in vivo ist aufgrund der vorliegenden Befunde gut denkbar. Unter dieser Vorstellung wären die erhöhten Natriumkonzentrationen als Folge eines verminderten aktiven Natriumauswärtstransportes über die basolaterale Membran zu deuten und würden das Konzentrationsgefälle auf der luminalen Seite herabsetzen. Dieser Effekt wäre, teleologisch gesehen, der eigentliche Sinn eines natriuretischen Plasmafaktors, da er den Membran-"Defekt", d.h. eine erhöhte

Permeabilität für Na^+ , kompensieren würde. Über den möglichen Wirkungsmechanismus eines derartigen natriuretischen Faktors können aus den vorliegenden Daten jedoch keine Schlüsse gezogen werden.

Die erwähnten Befunde, wonach die Aktivität der Na^+-K^+ -Pumpe erhöht sei, schließen die Wirksamkeit eines natriuretischen Faktors in vivo nicht aus. Ein reversibel gebundener Plasmafaktor könnte in vitro nicht mehr vorhanden gewesen sein. Die Natrium- und Wasserbilanzen sind im Mineralokortikoid-"escape" ausgeglichen (115), so daß dem großen Natrium-load ein entsprechender Anstieg der Natriurese gegenübersteht. Der "Natriuretische Faktor" sollte in vivo die durch das Mineralokortikoid indirekt aktivierte basolaterale Na^+-K^+ -ATPase an allen Tubulusabschnitten hemmen und so auch den passiven Einstrom von Natrium über die luminale Membran herabsetzen. Da die zelluläre Natrium-Konzentration unter diesen Bedingungen erhöht wäre, ließe sich der Bogen zu den Ergebnissen dieser Arbeit in einleuchtender Weise schließen.

Ob der "Natriuretische Faktor" tatsächlich in der beschriebenen Weise wirksam ist, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. Nach der unbewiesenen, aber auch unwidersprochenen Hypothese BLAUSTEINS bewirkt der natriuretische Faktor, wie oben im einzelnen dargestellt, den Anstieg des Gefäßtonus und führt damit zur arteriellen Hypertonie (16, 18, 19). Eine Veränderung der Transportvorgänge am Nierentubulus durch hohe Mineralokortikoidgaben in Verbindung mit einer hohen NaCl -

Belastung wäre danach die Störgröße, die schließlich den Blutdruck als Stellgröße beeinflusste. Die erhobenen Befunde könnten ein nicht unwichtiges Glied in der geschilderten Argumentationskette sein.

Auch die Untersuchungen von BECK und Mitarbeitern an SHR-Ratten (Fig. 8) (11), die wie die DOCA-Tiere einen Anstieg der Natriumkonzentration in den Nierentubuluszellen aufweisen, sprechen dafür, daß beiden Hypertonieformen eine Veränderung des membranalen Natriumtransportes an der Niere gemeinsam ist. Bei MHS-Tieren fällt $[Na]_i$ ab, so daß sich aus den vorgelegten Beobachtungen an den Nierentubuluszellen der DOCA-Ratte, insbesondere dem Anstieg der zellulären Natriumkonzentration, keine allgemeingültige Aussage über die Rolle des Natriumtransports in der Entstehung des arteriellen Hochdrucks treffen läßt.

c) Na^+-Na^+ -Gegentransport. Der oben bereits behandelte, ATP-abhängige Na^+-Na^+ - bzw. Na^+-Li^+ - bzw. Na^+-H^+ -Gegentransport ist nach Auffassung von CANESSA und TOSTESON an Erythrozyten von essentiellen Hypertonikern gesteigert (31, 32). Am proximalen Tubulus bewirkt dieses System den Einstrom von Natriumionen im Austausch gegen Protonen. Eine erhöhte Aktivität des Na^+-H^+ -Austausches würde daher nach einer Hypothese ARONSONS zum Anstieg von $[Na^+]_i$ führen und die tubuläre Natriumretention steigern (4, 57).

Der bei der vorliegenden Untersuchung beobachtete Anstieg

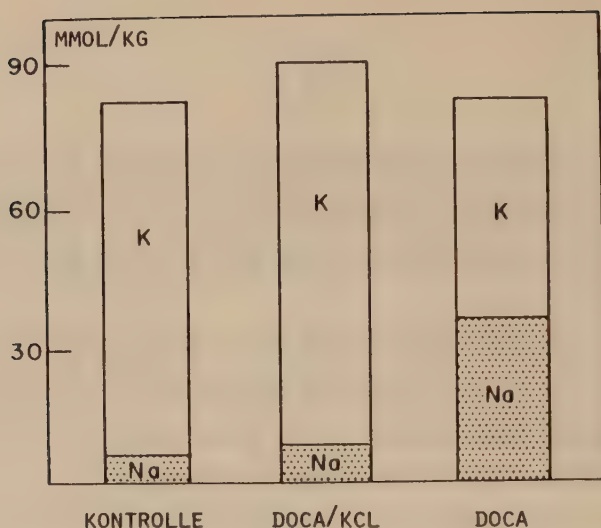


Fig. 10: Intrazelluläre Elektrolytkonzentrationen im fett-freien Muskelgewebe des Hundes nach DOCA-Behandlung (J.W. Ferrebee 1941, nach (119)).

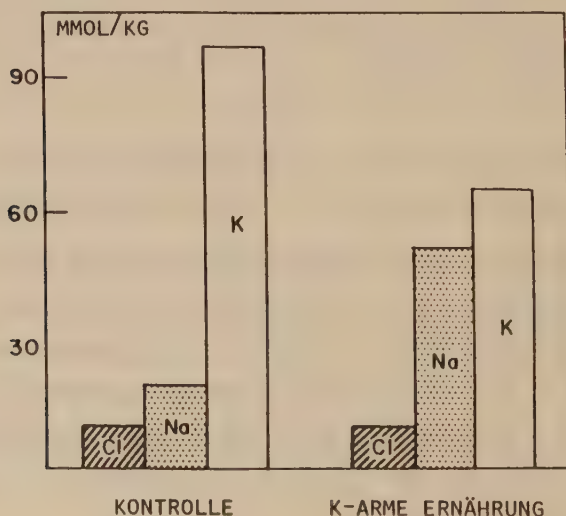


Fig. 11: Elektrolytgehalt in frischem Muskelgewebe der Ratte nach Kalium-armer Ernährung (L.A. Hepl 1939, nach (119)).

der zellulären Natriumkonzentration könnte also auch als Folge eines aktivierten Natrium-Protonen-Austausches an der Tubuluszelle aufgefaßt werden.

Eine Aktivierung dieses Transportsystems bei Mineralokortikoid-induzierte Hypertonie wurde bislang allerdings nicht beschrieben, und nach Arbeiten von DUHM und Mitarbeitern erscheint es auch als fraglich, ob eine konsistente Veränderung des $\text{Na}^+ - \text{Na}^+$ -Gegentransportsystems bei essentieller Hypertonie vorliegt (56, 57).

4. Hypokaliämie

Hyperaldosteronismus bzw. die Verabreichung hoher Dosen von Mineralokortikoiden führen bekanntlich zur Kaliurese und Hypokaliämie und somit zur Kaliumverarmung. Dabei kann die zelluläre Konzentration von Natrium ansteigen und die von Kalium absinken (Fig. 10); ähnliche Veränderungen kommen durch längere kaliumarme Ernährung zustande (Fig. 11) (119).

Im Hinblick auf die Frage, ob die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Veränderungen mit einem Kaliummangel erklärt werden können, sind in Figur 12 die verschiedenen Zelltypen nach DOCA-Kochsalz-Gabe und nach kaliumarmer Ernährung einander gegenübergestellt.

Nach diätetischer Kalium-Verarmung wurde bei proximalen und distalen Tubuluszellen (10), Hepatozyten (10) und Erythrozyten (58) ein Abfall der intrazellulären Kaliumkonzentration nachgewiesen. In keinem dieser Zelltypen, mit Ausnahme

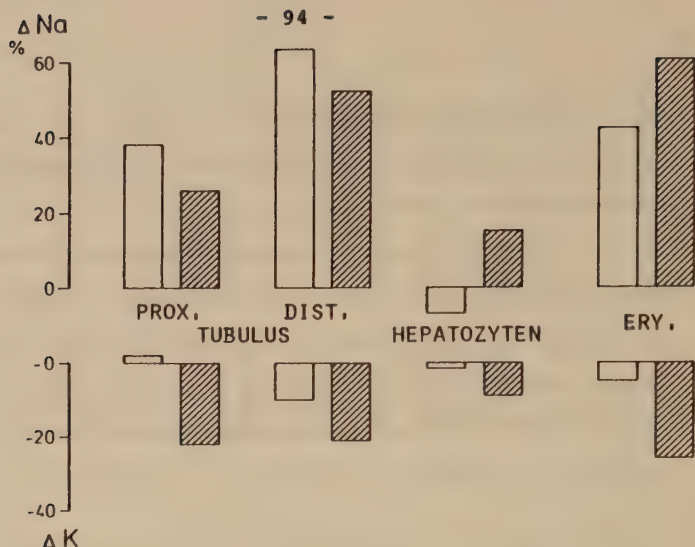


Fig. 12: Relative Veränderungen der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen in verschiedenen Zelltypen bei DOCA-lang- und diätetisch Kalium-verarmten Ratten

□ DOCA-lang, ▨ Kalium-Verarmung.

des distalen Tubulus, verursacht die Behandlung mit DOCA und Kochsalz ein solches Absinken von $[\text{K}]_i$.

Dagegen ist der Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration bei den DOCA-Tieren durchweg stärker ausgeprägt als bei diätetischem Kaliummangel, obwohl die Plasma-Kaliumkonzentration weniger stark erniedrigt ist. Sie sinkt bei kaliumarmer Ernährung von 4,4 auf 2,0 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (10), bei DOCA-Kochsalz-Behandlung nur von 4,7 auf 2,9 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Fig. 13). Sehr ähnliche Anstiege von $[\text{Na}]_i$ in proximalen und distalen Tubuluszellen,

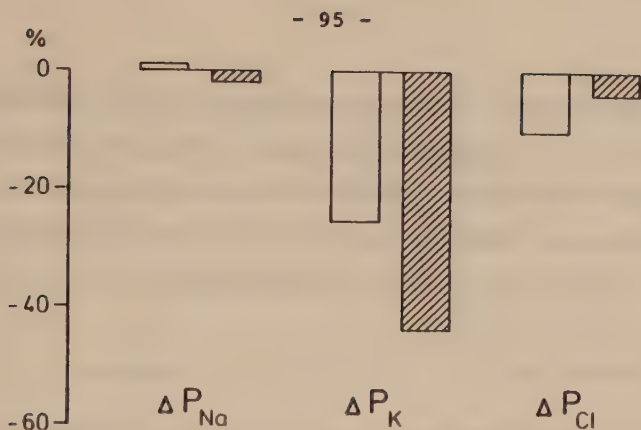


Fig. 13: Relative Veränderungen der Plasma-Elektrolytkonzentration bei DOCA-Kochsalz- und diätetisch Kalium-verarmten Ratten

Abkürzungen vgl. Fig. 12.

nämlich um 31 % bzw. 49 %, fanden sich auch in spontan hypertensiven, normokaliämischen Ratten des SHR-Stammes (11). Dieser Befund spricht ebenfalls dafür, daß die Veränderung der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen bei arterieller Hypertonie unabhängig von der Hypokaliämie gesehen werden muß. Diese und die Kaliumverarmung bei den DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratten mag einen Einfluß auf den Elektrolytbestand der Tubuluszellen ausüben. Doch können die Veränderungen, insbesondere der Anstieg von $[Na]_i$, keinesfalls nur auf einen Kaliummangel zurückgeführt werden.

Für den Abfall von $[K]_i$ in distalen Tubuluszellen von DOCA-lang-Tieren kann als plausible Erklärung die Tatsache dienen,

daß im Zustand des Mineralokortikoid-"escape" das Natrium-load im spätdistalen Tubulus erhöht ist (115). Dies führt zu einem starken Anstieg der K^+ -Sekretion (83) und könnte den signifikanten Abfall der zellulären Kaliumkonzentration in den entsprechenden Zellen zur Folge haben.

5. Schrumpfung

Bei den DOCA-lang-Tieren kam es in den Zellen des proximalen Tubulus zu einem signifikanten Anstieg des Zelltrockengewichtes ($\pm$ SEM) von $20,0 \pm 0,3$ auf $21,9 \pm 0,3$ %, also um 9,5 %. Im distalen Tubulus war der Anstieg um 4,2 % nicht signifikant. Bei beiden Zellgruppen war dagegen die Konzentration von Phosphor als strukturgebundenem Element der Zellmatrix um 8,6 bzw. 11,5 % erhöht. Der Anstieg von Trockengewicht und Phosphorgehalt, insbesondere in den Zellen des proximalen Tubulus, kann als Hinweis auf eine Zellschrumpfung angesehen werden. Er könnte jedoch auch Ausdruck einer vermehrten Synthese von phosphorhaltigen Zellstrukturen sein, wofür die stärkere Zunahme der intrazellulären Phosphorkonzentration in den distalen Tubuluszellen spricht. Von DUHM und Mitarbeitern wurden Veränderungen der Ionentransporteigenschaften von Erythrozyten bei DOCA-Kochsalzhypertensiven und diätetisch Kalium-verarmten Ratten in Zusammenhang mit einer Zellschrumpfung gebracht (58, 59). Der Ouabain-insensitive, Furosemid-hemmbar K^+ -Einwärtstransport (Na^+-K^+ -Kotransport) war gesteigert in Abhängigkeit vom Ab-

fall des zellulären Kaliumgehaltes und von der Zunahme des mittleren zellulären Hämoglobingehaltes.

Da dieses Transportsystem am Nierentubulus nicht bekannt ist, ist es unwahrscheinlich, daß ein derartiger Effekt hier eine maßgebliche Rolle spielt.

6. Chloridkonzentration

Über die Rolle des Chloridions im Zusammenhang mit der arteriellen Hypertonie gibt es praktisch keine Hinweise in der Literatur. Bei der vorliegenden Untersuchung fand sich ein signifikanter Abfall der Chloridkonzentration $[Cl]_i$ von 22 auf 19 $\text{mmol} \cdot \text{kg FG}^{-1}$ in den Zellen des proximalen Tubulus der DOCA-lang-Tiere.

Die Plasmakonzentrationen P_{Cl^-} bei den Kontroll- bzw. DOCA-lang-Tieren betrugen 103 bzw. 89 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Nimmt man für die Chloridkonzentration $[Cl]_o$ im peritubulären Milieu diesen Werte von P_{Cl^-} an, so ergibt sich der Quotient Q_{Cl^-} aus den Konzentrationen zu

$$Q_{Cl^-} = \frac{[Cl]_o}{[Cl]_i}.$$

Tabelle 17 zeigt die so errechneten Quotienten, die einander gleich sind. Das spricht dafür, daß die intrazellulären Chloridkonzentrationen entsprechend der Mineralokortikoid-induzierten Hypochlorämie so eingestellt sind, daß der che-

mische Gradient über die Zellmembran unverändert bleibt.
Eine weitergehende Folgerung ist aus den gemessenen Werten
nicht abzuleiten.

Tab. 17: Extra- /intrazellulärer Konzentrations-
quotient Q_{Cl} für Chlorid am proximalen Tubulus

	Q_{Cl}
Kontrollgruppe	4,61
DOCA-lang-Gruppe	4,62

G. ZUSAMMENFASSUNG

Der erhöhte arterielle Blutdruck ist gemeinsamer Leitbefund einer Reihe von Krankheiten. Für die Entstehung der Hypertonie wurde in den letzten Jahren zunehmend eine Störung des Elektrolyttransportes über die Zellmembran verantwortlich gemacht. Eine derartige Veränderung des Natriumtransportes an den Zellen der glatten Gefäßmuskulatur könnte nach den Vorstellungen BLAUSTEINS eine Erhöhung des Gefäßtonus zur Folge haben. An den Zellen des Nierentubulus hingegen könnte eine Störung des transmembranalen Elektrolyttransportes eine Veränderung des transepithelialen Elektrolytflusses bewirken. Die Folge davon wäre eine Störung im Kochsalzhaushalt des Organismus, wie sie schon seit langem für die Entstehung der Hypertonie mit verantwortlich gemacht wird.

Da man davon ausgehen kann, daß sich Veränderungen des transepithelialen Transportes in veränderten zellulären Elektrolytkonzentrationen widerspiegeln, wurden in der vorliegenden Untersuchung die Elektrolytkonzentrationen in den Nierentubuluszellen von normo- und hypertensiven Ratten mit Hilfe der Elektronenstrahl-Mikroanalyse (EMA) ermittelt. Diese Methode erlaubt es, Elementkonzentrationen in morphologisch definierten Zellen exakt zu bestimmen. Männliche SPRAGUE-DAWLEY-Ratten erhielten für 3 bis 6 Wochen 1 %ige NaCl-Lösung zu trinken und wurden mit

2,5 mg DOCA $\cdot$ kg Körpergewicht⁻¹ $\cdot$ d⁻¹ behandelt. Dann wurden die Nieren freipräpariert und schockgefroren. Die zellulären Elementkonzentrationen wurden in ca. 1 μ m dicken, gefriergetrockneten Kryoschnitten vom Nierenkortex bestimmt.

Die Behandlung mit DOCA und Kochsalz für 6 Wochen (n = 10) führte zu einem Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks auf 179 mmHg gegenüber 122 in der Kontrollgruppe (n = 7). Die Plasmakonzentrationen von K⁺ und Cl⁻ waren mit 2,9 bzw. 89 mmol $\cdot$ l⁻¹ niedriger als die Kontrollwerte (4,7 bzw. 103). Im proximalen Tubulus betrug die intrazelluläre Natriumkonzentration [Na]_i 26,0 $\pm$ 0,6 gegenüber 18,8 $\pm$ 0,5 mmol $\cdot$ kg Feuchtgewicht⁻¹ in der Kontrollgruppe (Mittelwerte $\pm$ SEM). In den Zellen des distalen Tubulus lagen [Na]_i mit 20,2 $\pm$ 1,0 höher und [K]_i mit 119,7 $\pm$ 5,5 niedriger als bei den Kontrolltieren, wo die Werte 12,4 $\pm$ 0,5 bzw. 133,6 $\pm$ 3,6 betrugen. Entsprechende Messungen an Hepatozyten von DOCA-Ratten zeigten keine Veränderungen von [Na]_i.

Aus den genannten Befunden lassen sich im wesentlichen folgende Aussagen ableiten:

- 1.) Die Entwicklung einer durch DOCA und NaCl induzierten Hypertonie geht mit einem erheblichen Anstieg von [Na]_i in den Zellen des Nierentubulusepithels einher.
- 2.) In der Literatur wird ebenfalls über erhöhte Natriumkonzentrationen in Erythrozyten und Gefäßmuskulatur von

DOCA-Ratten berichtet. Die Hypothese, daß alle Zellen des Organismus bei dieser Hypertonieform eine Störung des Elektrolythaushaltes aufweisen, wird durch das Fehlen eines solchen Anstiegs in den Leberzellen widerlegt.

3.) Erhöhte Natriumkonzentrationen in Blutkörperchen, Gefäßen und Nierentubuluszellen wurden auch für Ratten mit genetisch determinierter Hypertonie (SHR) vielfach beschrieben. Ebenso zeigten Erythrozyten von essentiellen Hypertonikern einen Anstieg von $[Na]_i$. Dagegen war $[Na]_i$ in Tubuluszellen und Erythrozyten von spontan hypertensiven MHS-Ratten niedriger als bei Kontrolltieren. Obwohl die vorliegenden Befunde sich demnach mit Beobachtungen an anderen Hypertonieformen decken, ist eine Erhöhung von $[Na]_i$ im Tubulusepithel der Niere also kein für alle Hypertonieformen gültiger Befund.

4.) Die erhöhte Natriumkonzentration in den Tubuluszellen kann allein mit der Hypokaliämie der DOCA-Tiere nicht erklärt werden, da gleichartige Untersuchungen an diätetisch K^+ -verarmten Ratten trotz noch niedrigerer Plasma-Kaliumkonzentrationen einen deutlich geringeren Anstieg von $[Na]_i$ zeigten.

5.) Die vorliegenden Befunde können als Ausdruck eines veränderten transepithelialen Transportes von Na^+ bei DOCA-Hypertonie aufgefaßt werden. Zum einen könnte der passive Einstrom von Na^+ über die luminale Membran der Tubuluszelle aufgrund einer durch DOCA gesteigerten Natriumpermeabilität

erhöht sein; zum anderen könnte ein verminderter Auswärtstransport über die basolaterale Membran, etwa durch eine Hemmung der $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ (de WARDENER), vorliegen. Beide Möglichkeiten sowie deren Kombination würden eine Erhöhung von $[\text{Na}]_i$ erklären.

6.) Zwar muß offen bleiben, ob der beobachtete Konzentrationsanstieg von Na^+ Ursache oder Folge der durch DOCA induzierten Hypertonie ist; aber man kann feststellen, daß die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit eine Störung des membranalen Natriumtransportes am Nierentubulus der DOCA-Kochsalz-hypertensiven Ratte belegen, wie sie von zahlreichen Autoren als Schritt in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie vermutet wird.

H. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alfrey, A.C.
The renal response to vascular injury
in: Brenner, B.M. und F.C. Rector (Hrsg.):
The Kidney, Vol.2, S. 1668-1718
Saunders, Philadelphia, London, Toronto, 1981
2. Ambrosioni, E., F. Tartagni, L. Montebugnoli, F.V. Costa
B. Magnani
Intralymphocytic sodium in hypertensive patients
in: Zunkley, H. und H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 78-86
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
3. Ambrosioni, E., F.V. Costa, L. Montebugnoli, F. Tartagni,
B. Magnani
Increased intralymphocytic sodium content in essential
hypertension: an index of impaired Na⁺ cellular metabolism
Clin. Sci. 61:181-186, 1981
4. Aronson, P.S.
Red-cell sodium-lithium countertransport and essential
hypertension
New Engl. J. Med. 307:317, 1982 (Brief)
5. Batterbee, H.D., G.B. Meneely
The toxicity of salt
CRC Crit. Rev. Toxicol. 5:355-376, 1978
6. Bauer, R.
Quantitative Elektronenstrahlmikroanalyse zur Bestim-
mung von zellulären Elektrolytkonzentrationen in
biologischem Weichgewebe
Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, 1978
7. Bauer, R., R. Rick
A computer program for the analysis of low energy
X-ray spectra
Microscopica Acta, Suppl. 2
in: Echlin, P., R. Kaufmann (Hrsg.):
Microprobe Analysis in Biology and Medicine
S. 205-216
Hirzel, Stuttgart, 1978

8. Bauer, R., R. Rick
Computer analysis of X-ray spectra (EDS) from thin biological specimens
X-ray Spectrom. 63-66, 1978
9. Beck, F., R. Bauer, U. Bauer, J. Mason, A. Dörge, R. Rick K. Thureau
Electron microprobe analysis of intracellular elements in the rat kidney
Kidney Int. 17:756-763, 1980
10. Beck, F., A. Dörge, J. Mason, R. Rick, K. Thureau
Element concentrations of renal and hepatic cells under potassium depletion
Kidney Int. 22: 250-256, 1982
11. F. Beck, G. Bianchi, A. Dörge, R. Rick, M. Schramm, K. Thureau
Sodium and potassium concentrations of renal cortical cells in two animal models of primary arterial hypertension
J. Hypertension 1 (Suppl. 2):38-39, 1983
12. Beck, F.
pers. Mitt., 1984
13. Berglund, G., L. Sigstrom, S. Lundin, B.E. Karlberg, H. Herlitz
Intra-erythrocyte sodium and (Na⁺,K⁺-activated)-ATPase concentration and urinary aldosterone excretion in spontaneously hypertensive rats
Clin. Sci. 60:229-232, 1981
14. Bianchi, G., U. Fox, F.G. di Francesco, A.M. Giovanetti, D. Pagetti
Blood pressure changes produced by kidney cross transplantation between spontaneously hypertensive rats and normotensive rats
Clin. Sci. Mol. Med. 47:435-448, 1974
15. Bianchi, G., D. Cusi, C. Barlassina, G.P. Lupi, P. Ferrari, G.B. Picotti, M. Gatti, E. Polli
Renal dysfunction as a possible cause of essential hypertension in predisposed subjects
Kidney Int. 23:870-875, 1983
16. Blaustein, M.P.
Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: A reassessment and a hypothesis
Am. J. Physiol. 232:C165-173, 1977

17. Blaustein, M.P.
How does sodium cause hypertension? A hypothesis
in: Zunkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Elektrolytes and Arterial Hypertension
S. 151-157
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
18. Blaustein, M.P., S. Lang, M. James-Kracker
Cellular basis of sodium-induced hypertension
in: Laragh, J.H., F.R. Bühler, D.W. Seldin (Hrsg.):
Frontiers in Hypertension Research
S. 87-90
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981
19. Blaustein, M.P.
Sodium Transport and Hypertension. Where are we going?
Hypertension 6:445-453, 1984
20. Bohr, D.F.
The role of altered vascular reactivity in hypertension
in: Davis, J.O., J.H. Laragh, A. Seldwyn (Hrsg.):
Hypertension: Mechanisms, Diagnosis and Management
S. 59-68
HP Publishing Co., New York, 1977
21. Bojesen, E., P.P. Leyssac
The kidney cortex slice technique as a model for sodium
transport in vivo
Acta Physiol. Scand. 65:20-32, 1965
22. de Bold, A.J.
Atrial natriuretic factor of the rat heart. Studies on
isolation and properties
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 170:133-138, 1982
23. Borst, J.G.G., A. Borst-de Gues
Hypertension explained by Starling's theory of
circulation homeostasis
Lancet 1:677, 1963
24. Borst, M.
Pathologische Histologie
J.P. Bergmann, München, 1950
25. Borst, M., F. Beck, A. Dörge, R. Rick, K. Thureau
Element concentrations of renal tubular cells and
hepatocytes in DOCA-hypertensive rats
Pflügers Arch. 392 (Suppl.):R14, 1982 (Abstr.)

26. Boylan, J.W., P. Deetjen, K. Kramer
 Salz- und Wasserhaushalt
 in: Gauer, O.H., K. Kramer, G. Jung (Hrsg.):
 Physiologie des Menschen, Bd. 7:
 Niere und Wasserhaushalt
 S. 103-143
 Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien, 1976
27. Briggs, J.P., B. Steipe, G. Schubert, J. Schnermann
 Micropuncture studies of the renal effects of atrial
 natriuretic substance
 Pflügers Arch. 395:271-276, 1982
28. Briggs, J.P.
 pers. Mitt., 1985
29. Brock, T.A., J.B. Smith, H.W. Overbeck
 Relationship of vascular sodium-potassium pump activity
 to intracellular sodium in hypertensive rats
 Hypertension 4 (Suppl. II): II43-II48, 1982
30. Burg, M.B., J. Orloff
 Effect of temperature and medium K on Na and K fluxes
 in separated renal tubules
 Am. J. Physiol. 211:1005-1010, 1966
31. Canessa, M., N. Adragna, H.S. Solomon, T.M. Connolly,
 D.C. Tosteson
 Increased Na-Li-countertransport in red cells of patients
 with essential hypertension
 New Engl. J. Med. 302:772, 1980
32. Canessa, M., N. Adragna, I. Bize, T. Connolly, H. Solomon,
 G. Williams, E. Slater, D.C. Tosteson
 Ouabain-insensitive cation transport in the red cells of
 normotensive and hypertensive subjects
 in: Zunkley, H., H. Losse (Hrsg.):
 Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
 S. 239-250
 Thieme, Stuttgart, New York, 1980
33. Carretero, O.A., J.C. Romero
 Production and characteristics of experimental
 hypertension in animals
 in: Genest, J. (Hrsg.):
 Hypertension: Physiopathology and Treatment
 S. 485-505
 McGraw Hill, New York, 1977
34. Cemerikic, D., C.S. Wilcox, G. Giebisch
 Intracellular potential and K⁺ activity in rat kidney
 tubular cells in acidosis and K⁺ depletion
 J. Membr. Biol. 69:159-165, 1982

35. Chobanian, A.V., B.A. Burrows, W. Hollander
Body fluid and electrolyte composition in arterial hyper-
tension. II. Studies in mineralocorticoid hypertension
J. Clin. Invest. 40:416-422, 1961
36. Clough, D.L., M.B. Pannani, H.W. Overbeck
Decreased myocardial Na,K-ATPase in rats with one-kidney
Goldblatt hypertension
Fed. Proc. 36:491, 1977 (Abstr.)
37. Clough, D.L., M.B. Pannani, P.J. Haddy
Decreased Na,K-ATPase in left ventricular myocardium of
rats with one-kidney DOCA-saline hypertension
Clin. Res. 26:361, 1978 (Abstr.)
38. Conn, J.W., L.H. Louis
Primary aldosteronism: A new clinical entity
Trans. Assoc. Am. Physicians 68:215, 1955
39. Conn, J.W.
Suppression of plasma renin activity in primary
aldosteronism
J.A.M.A. 190:213, 1964
40. Conn, J.W.
Primary aldosteronism and primary reninism
in: Davis, J.O., J.H. Laragh, A. Seldwyn (Hrsg.):
Hypertension: Mechanisms, Diagnosis and Management
S. 111-120
HP Publishing Co., New York, 1977
41. Constantopoulos, G.
Cations and norepinephrine content of arteries in
hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 452-470
McGraw Hill, New York, 1977
42. Currie, M.G., D.M. Geller, B.R. Cole, N.R. Siegel, K.F. Fok,
S.P. Adams, S.R. Eubanks, G.R. Gallupi, P. Needleman
Purification and sequence analysis of bioactive atrial
peptides (atriopeptins)
Science 223:67-69, 1984
43. Dahl, L.K., R.M. Love
Possible risk of chronic excess salt consumption in the
pathogenesis of essential hypertension
Am. J. Cardiol. 8:571, 1961
44. Dahl, L., E. Schackow
Effects of chronic excess salt ingestion: Experimental
hypertension in the rat
Can. Med. Assoc. J. 90:155, 1964

45. Dahl, L.K., M. Heine
Primary role of renal homografts in setting chronic blood pressure levels in rats
Circ. Res. 36:692, 1975
46. Dahl, L.
Salt intake and hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 548-559
McGraw Hill, New York, 1977
47. Davies, D.L., K. McElroy, A.B. Atkinson, J.J. Brown, A.M.M. Cummings, R. Fraser, B.J. Leckie, A.F. Lever, A. Mackay, J.J. Morton, J.I.S. Robertson
Relation between exchangeable sodium and blood pressure in different forms of hypertension in man
Clin. Sci. 57:69s-75s, 1979
48. Denecke, H.
Renovasculärer Hochdruck. Klinische Untersuchungen zur Spätprognose operativer Behandlung und tierexperimentelle Studien zur intrazellulären Elektrolytkonzentration
Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1979
49. Dev, B., D. Häberle, J. Schnermann, P. Wunderlich
Effect of barbiturates on GFR and fluid reabsorption along proximal convoluted tubules and loops of Henle in rats
Pflügers Arch. 344:21-32, 1973
50. Dörge, A.
Elektronenstrahlmikroanalyse von Elektrolyten zur Charakterisierung des transepithelialen Natriumtransportes in der Froshhaut
Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1974
51. Dörge, A., R. Rick, K. Gehring, J. Mason, K. Thureau
Preparation and applicability of freeze-dried sections in the microprobe analysis of biological soft tissues
J. Microsc. Biol. Cell 22:205-214, 1975
52. Dörge, A., R. Rick, K. Gehring, K. Thureau
Preparation of freeze-dried cryosections for quantitative X-ray microanalysis of electrolytes in biological soft tissues
Pflügers Arch. 373:85-97, 1978
53. Dotzel, W.
Elektronenstrahlmikroanalyse intrazellulärer Elektrolytkonzentrationen von Rattennieren in Antidiurese
Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, 1983

54. Doucet, A., A.I. Katz
Short term effects of aldosterone on Na-K-ATPase in single nephron segments
Am. J. Physiol. 241:F273-F278, 1981
55. Duhm, J., B.F. Becker
Studies on lithium transport across the red cell membrane. V. On the nature of the Na⁺-dependent Li⁺ countertransport system of mammalian erythrocytes
J. Membr. Biol. 51:263-286, 1979
56. Duhm, J., B.O. Göbel, R. Lorenz, P.C. Weber
Sodium-lithium exchange and sodium-potassium cotransport in human erythrocytes. Part 2: A simple uptake test applied to normotensive and essential hypertensive individuals
Hypertension 4:477-482, 1982
57. Duhm, J.
Intrazelluläre Elektrolyte und Bluthochdruck.
Membran-Theorie der essentiellen Hypertonie
Münch. Med. Wochenschr. 125:1045-1049, 1983
58. Duhm, J., B.O. Göbel, F.X. Beck
Sodium and potassium transport in erythrocytes of DOC, DOC-salt, two-kidney, one-clip, and spontaneously hypertensive rats. Role of hypokalemia and cell volume
Hypertension 5:642-652, 1983
59. Duhm, J., B.O. Göbel
Na⁺-K⁺ transport and volume of rat erythrocytes under dietary K⁺ deficiency
Am. J. Physiol. 246:C20-C29, 1984
60. Dunn, M.J., R.L. Tannen
Low renin hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 349-364
McGraw Hil, New York, 1977
61. Edelman, A., S. Curci, I. Samarzija, E. Frömter
Determination of intracellular K⁺ activity in rat kidney proximal tubular cells
Pflügers Arch. 378:37-45, 1978
62. Edmondson, R.P.S.
Abnormal leucocyte composition and sodium transport in essential hypertension
Lancet 1:1003, 1975
63. Elmer, M., P.C. Escildsen, L.O. Kristensen, P.P. Leyssac
A comparison of renal function in rats anaesthetized with Inactin and Sodium Amytal
Acta Physiol. Scand. 86:41-58, 1972

64. Elmer, M., L.O. Kristensen, P.P. Leyssac
Proximal luminal diameters and cell volume in rats
anaesthetized with Inactin and Amytal
Acta Physiol. Scand. 88:226-233, 1973
65. El Mernissi, G., A. Doucet
Short-term effects of aldosterone on renal sodium transport
and tubular Na-K-ATPase in the rat
Pflügers Arch. 399:139-146
66. Erdmann, E., K. Werdan, R. Hegelberger, M. Pruchniewski,
St. Christl
Determination of the number of (Na⁺ + K⁺)-ATPase molecules,
their enzymatic activity and the active Na⁺ / K⁺ -transport
of human erythrocytes in hypokalemia and in hypertension
in: Zunkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 164-170
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
67. Feig, P.U., P.P. Mitchell, J.W. Boylan
Erythrocyte membrane transport in hypertensive humans
and rats
Hypertension 7:423-429, 1985
68. Ferrari, P., D. Cusi, B. Barber, C. Barlassina, G. Vezzoli,
L. Duzzi, E. Minotti, G. Bianchi
Erythrocyte membrane and renal function in relation to
hypertension in rats of the Milan hypertensive strain
Clin. Sci. 63:61s-64s, 1982
69. Fitzgibbon, W.R., T.O. Morgan, J.B. Myers
Erythrocyte 22Na efflux and urinary sodium excretion
in essential hypertension
Clin. Sci. 59 (Suppl. 6):195s-197s, 1980
70. Folkow, B.U.G., M.I.L. Hallbäck
Physiopathology of spontaneous hypertension in rats
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 507-529
McGraw Hill, New York, 1977
71. Fox, U., G. Bianchi
The primary role of the kidney in causing the blood
pressure difference between the Milan hypertensive strain
(MHS) and normotensive rats
Clin. Exp. Pharm. Physiol. (Suppl.)3:71-74 , 1976
72. Franks, F.
Biological freezing and cryofixation
J. Microsc. 111:3-16, 1977

73. Franks, F., M.H. Asquith, C.C. Hammond, H.L.B. Skaer, P. Echlin
Polymeric cryoprotectants in the preservation of biological ultrastructure. I. Low temperature states of aqueous solutions of hydrophilic polymers
J. Microsc. 110:223-238, 1977
74. Freis, E.D.
Sodium deprivation as an approach to hypertension
in: Laragh, J.H., F.R. Bühler, D.W. Seldin (Hrsg.):
Frontiers in Hypertension Research
S. 43-45
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981
75. Friedman, S.M., C.L. Friedman
Cell permeability, sodium transport and the hypertensive process in the rat
Circ. Res. 39:434-441, 1976
76. Friedman, S.M., M. Nakashima, R.A. McIndoe, C.L. Friedman
Increased erythrocyte permeability to Li and Na in the spontaneously hypertensive rat
Experientia (Basel) 32:476-478, 1976
77. Friedman, S.M.
Arterial contractility and reactivity
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 470-484
McGraw Hill, New York, 1977
78. Frohlich, E.D.
Hemodynamic concepts in hypertension
in: Davis, J.O., J.H. Laragh, A. Seldwyn (Hrsg.):
Hypertension: Mechanisms, Diagnosis and Management
S. 121-134
HP Publishing Co., New York, 1977
79. Führ, J., J. Kaczmarczyk, C.D. Krüttgen
Eine einfache Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern
Klin. Wochenschr. 33:729-730, 1955
80. Garay, R.P., G. Dagher
Erythrocyte Na⁺ and K⁺ transport systems in essential hypertension
in: Zunkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 69-76
Thieme, Stuttgart, New York, 1980

81. Gavras, H., H.R. Brunner, J.H. Laragh, E.D. Vaughan jr.,
M. Koss, L.J. Cote, I. Gavras
Malignant hypertension resulting from deoxycorticosterone
acetate and salt excess. Role of renin and sodium in
vascular changes
Circ. Res. 36:300-309, 1975
82. Gehring, K., A. Dörge, P. Wunderlich, K. Thureau
Über die Anwendung der Elektronenstrahlmikroanalyse an
gefriergetrockneten Kryoschnitten und an tiefgefrorenem,
wasserhaltigen Gewebe von Rattennieren.
Beiträge zur elektronenmikroskopischen Direktabbildung
von Oberflächen 5:937-949, 1973
83. Giebisch, G.
Renal potassium transport
in: Giebisch, G., D.C. Tosteson, H.H. Ussing (Hrsg.):
Membrane Transport in Biology, Bd. IV A
S. 215-298
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1979
84. Grekin, R.J., J.M. Terris, D.F. Bohr
Electrolyte and hormonal effects of deoxycorticosterone
acetate in young pigs
Hypertension 2:326-332, 1980
85. Gruber, K.A., J.M. Whitaker, V.M. Buckalew jr.
Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-
expanded dogs
Nature 287:743-745, 1980
86. Guyton, A.C.
Personal views on mechanisms of hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Pathophysiology and treatment
S. 566-575
McGraw Hill, New York, 1977
87. Häberle, D.A., G. Ruhland
Inactin concentration in plasma of rats during anaesthesia
and the effect of this concentration on short circuit
current of isolated frog skin
Pflügers Arch. 365: 77-80, 1976
88. Häberle, D.A.
Bedeutung humoraler Faktoren in der Tubulusflüssigkeit für
die Aufrechterhaltung der glomerulo-tubulären Balance im
proximalen Tubulus der Rattenniere
Fortschr. Med. 46:2337, 1978
89. Haddy, F.J., H.W. Overbeck
The role of humoral agents in volume expanded hypertension
Life. Sci. 19:935-948, 1976

90. Haddy, F., M. Pamnani, D. Clough
The sodium-potassium-pump in volume expanded hypertension
Clin. Exp. Hypertension 1:295-336, 1978
91. Haddy, F.J.
Mechanism, prevention and therapy of sodium-dependent hypertension
Am. J. Med. 69:746-758, 1980
92. Haddy, F.J., M.B. Pamnani
The vascular Na⁺-K⁺-pump in low renin hypertension
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S61-S74, 1984
93. Hall, T.A.
Preparation and examination of biological samples
J. Microsc. Biol. Cell 22:271-281, 1972
94. Hendrickx, H., R. Casteels
Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle cells
Pflügers Arch. 346:299-306, 1974
95. Hennigsen, N.C., S. Mattson, B. Nosselin, D. Nelson, O. Ohlsson
Abnormal whole-body and cellular (erythrocytes) turnover of 22Na⁺ in normotensive relatives of probands with established essential hypertension
Clin. Sci. 57 (Suppl. 5):321s-324s, 1979
96. Hierholzer, K., S. Lange
The effects of adrenal steroids on renal function
in: MTP International Review of Science, Physiology Series I:
Thurau, K. (Hrsg.):
Bd. 6: Kidney and Urinary Tract Physiology
S. 273-333
Butterworths Univ. Park Press, London, Baltimore, 1974
97. Höhling, H.J., T.A. Hall, W. Kriz, A.P.v. Rosenstiel, J. Schnermann, U. Zessak
Loss of mass in biological specimens during electronprobe X-ray microanalysis
in: Gross, J.F., R. Kaufmann, E. Weberer (Hrsg.):
Modern Techniques in Physiological Science
S. 335-343
Academic Press, London, New York, 1973
98. Hollander, W., A.V. Chobanian, B.A. Burrows
Body fluid and electrolyte composition in arterial hypertension. I. Studies in essential, renal and malignant hypertension
J. Clin. Invest. 40:408-415, 1961

99. Huot, S., M. Pamnani, D. Clough, F.J. Haddy
Depressed Na⁺-K⁺-pump activity in tail arteries of reduced
renal mass hypertensive rats
Fed. Proc. 39:1188, 1980 (Abstr.)
100. Jehl, B., R. Bauer, A. Dörge, R. Rick
The use of propane/isopentane mixtures for rapid freezing of
biological specimens
J. Microsc. 123:307-309, 1981
101. Jones, A.W.
Altered ion transport in vascular smooth muscle from spon-
taneously hypertensive rats. Influence of aldosterone,
norepinephrine and angiotensin
Circ. Res. 33:563-572, 1973
102. Jones, A.W., R.G. Hart
Altered ion transport in aortic smooth muscle during deoxy-
corticosterone acetate hypertension in the rat
Circ. Res. 37:333-341, 1975
103. Jones, R.B., J. Patrick, P.J. Hilton
Increased sodium content and altered sodium transport in
thymocytes of spontaneously hypertensive rats
Clin. Sci. 61:313-316, 1981
104. Jørgensen, P.L.
Sodium and potassium pump in kidney tubules
Phys. Rev. 60:864-917, 1980
105. Julius, St.
Classification of hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 9-12
McGraw Hill, New York, 1977
106. Katz, A.I.
Renal Na-K-ATPase: its role in tubular sodium and
potassium transport
Am. J. Physiol. 242:F207-F219, 1982
107. Kempner, W.
Treatment of hypertensive vascular disease
with rice diet
Am. J. Med. 4:545, 1948
108. Khuri, R.N.
Electrochemistry of the nephron
in: Giebisch, G., D.C. Tosteson, H.H. Ussing (Hrsg.):
Membrane Transport in Biology, Bd. IV A
S. 47-95
Springer, New York, 1979

109. Khuri R.N., S.K. Agulian, A. Kalloghlian
Intracellular potassium in cells of the distal tubule
Pflügers Arch. 335:297-308, 1972
110. Khuri R.N., S.K. Agulian, K. Bogharian
Electrochemical potentials of chloride in distal renal
tubule of the rat
Am. J. Physiol. 227:1352-1355, 1974
111. Khuri, R.N., S.K. Agulian, K. Bogharian
Electrochemical potentials of potassium in proximal
renal tubule of the rat
Pflügers Arch. 346:319-326, 1974
112. Kirkendall, W.M., G.A. Nottebohm
Essential hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 674-692
McGraw Hill, New York, 1977
113. Knepper, M.A., M.B. Burg
Increased fluid absorption and cell volume in isolated
rabbit proximal straight tubules after in vivo DOCA
administration
Am. J. Physiol. 241:F502-F508, 1981
114. Knox, W.H., A.K. Sen
Mechanisms of action of aldosterone with particular
reference to (Na+K)-ATPase
Ann. N. Y. Acad. Sci. 242:471-488, 1974
115. Knox, F.G., J.C. Burnett jr., D.E. Kohan, W.S. Spielman,
J.C. Strand
Escape from the sodium-retaining effects of mineralo-
corticoids
Kidney Int. 17:263-276, 1980
116. Kramer, H.J.
Natriuretic hormone - a circulating inhibitor of sodium-
and potassium-activated adenosin triphosphatase. Its
potential role in body fluid and blood pressure regulation
Klin. Wochenschr. 59:1225-1230, 1981
117. Kriz, W., J. Schnermann, H.J. Höhling, A.P.v. Rosenstiel,
T.A. Hall
Electron probe microanalysis of electrolytes in kidney
cells
in: Recent Advances in Renal Physiology
S. 162-171
Karger, Basel, 1972

118. Lang, s., M.P. Blaustein
The role of the sodium pump in the control of vascular
tone in the rat
Circ. Res. 46:463-470, 1980
119. Leaf, A., R.S. Cotran
Renal Pathophysiology
Oxford Univ. Press, New York, Oxford, 1985
120. Levinsky, N.G., M. Levy
Clearance techniques
in: Orloff, J., R.W. Berliner (Hrsg.):
Handbook of Physiology, Section 8
S. 103-117
American Physiological Society, Washington, 1973
121. Losse, H.
Der Wasser- und Elektrolytgehalt von Erythrozyten bei
arterieller Hypertonie
Klin. Wochenschr. 38:393, 1960
122. Losse, H., H. Zunkley, H. Wehmeyer
Untersuchung über den Elektrolyt- und Wassergehalt von
Erythrozyten bei arterieller Hypertonie
Z. Kreislaufforsch. 51:43-51, 1962
123. Losse, H., W. Zidek, H. Vetter
Intracellular sodium and calcium in vascular smooth
muscle of spontaneously hypertensive rats
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S32-S34, 1984
124. Lowenstein, J., E.R. Beranbaum, H. Chasis, D.S. Baldwin
Intrarenal pressure and exaggerated natriuresis in
essential hypertension
Clin. Sci. 38:359-374, 1970
125. MacGregor, G., H.E. de Wardener
A circulating sodium transport inhibitor in essential
hypertension and in spontaneously hypertensive rats
in: Laragh, J.H., F.R. Bühler, D.W. Seldin (Hrsg.):
Frontiers in Hypertension Research
S. 94-97
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981
126. MacGregor, G.A., H.E. de Wardener
A circulating sodium transport inhibitor and
essential hypertension
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S55-S60, 1984
127. MacKnight, A.D.C.
The effect of ethacrynic acid on the electrolyte and
water contents of rat renal cortical slices
Biochim. Biophys. Acta 173:223-233, 1969

128. Marshall, D.J., T.A. Hall
Electron probe X-ray microanalysis of thin films
Brit. J. Appl. Physiol. 1:1651-1656, 1968
129. Marver, D., J.P. Kokko
Renal target sites and the mechanism of action
of aldosterone
Miner. Electrol. Metab. 9:1-18, 1983
130. Mason, J., F. Beck, A. Dörge, R. Rick, K. Thureau
Intracellular electrolyte composition following
renal ischemia
Kidney Int. 20:61-70, 1981
131. Maude, D.L.
Effect of K and ouabain on fluid transport and cell
Na in proximal tubule in vitro
Am. J. Physiol. 218:1590-1595, 1970
132. McAreavey, D., W.B. Brown, J.I.S. Robertson
Exchangeable sodium measured serially in DOC-salt,
post-DOC-salt, and Goldblatt hypertension in the rat
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S126-S133, 1984
133. de Mendonça, M., M.L. Grichois, R.P. Garay, D. Ben-Ishay,
J. Sassaro, G. Bianchi, A.-M. Caravaggi, Ph. Meyer
Abnormal net sodium and potassium fluxes in erythrocytes
of four varieties of genetically hypertensive rats
in: Zunkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
134. de Mendonça, M., R.P. Garay, D. Ben-Ishay, P. Meyer
Abnormal erythrocyte cation transport in primary hyper-
tension. Clinical and experimental studies
Hypertension 3:1179-1183, 1981
135. de Mendonça, M., A. Knorr, M.L. Grichois, D. Ben-Ishay,
R.P. Garay, P. Meyer
Erythrocytic sodium ion transport systems in primary and
secondary hypertension of the rat
Kidney Int. 11(Suppl.):S69-S75, 1982
136. Mertz, D.P.
Observations on renal clearance and the volume of
distribution of polyfructosan-S, a new inulin-like
substance
Experientia 19:248-249, 1963

137. Meyer, P., D.C. Tosteson
Diskussionsbemerkung
in: Laragh, J.H., F.R. Bühler, D.W. Seldin (Hrsg.):
Frontiers in Hypertension Research
S. 99
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981
138. Moore, H.
Cryotechnology for structural analysis of
biological material
in: Freeze-Etching: Techniques and Applications
S. 11-86
Société Française Électronique, Paris, 1973
139. Morgan, T., S. Carney, J. Myers
Sodium and hypertension. A review of the role of sodium
in pathogenesis and the action of diuretic drugs
Pharmac. Ther. 9:395-418, 1980
140. Nomenclature Committee on hypertensive rat strains of the
International Society of Hypertension
Nomenclature of hypertensive rat strains
Hypertension 3:506, 1981
141. O'Neil, R.G., R.A. Hayhurst
Sodium-dependent modulation of the renal Na-K-ATPase:
Influence of mineralocorticoids on the cortical collecting
duct
J. Membr. Biol. 85:169-179, 1985
142. Overbeck, H.W., M.B. Pamnani, T. Akera, T.M. Brody,
F.J. Haddy
Depressed function of a ouabain-sensitive sodium-potassium
pump in blood vessels from renal hypertensive dogs
Circ. Res. 38(Suppl. II):II48-II52, 1976
143. Palmer, L.G., H.-Y. Li Jack, B. Lindemann, I.S. Edelman
Aldosterone control of the density of sodium channels in
the toad urinary bladder
J. Membr. Biol. 64:91-102, 1982
144. Pamnani, M.B., D.C. Clough, F.J. Haddy
Altered activity of the sodium-potassium pump in arteries
of rats with steroid hypertension
Clin. Sci. Mol. Med. 55:41s-43s, 1978
145. Pamnani, M.B., D.C. Clough, F.J. Haddy
Altered activity of the Na⁺-K⁺ pump in arteries of rats
with steroid hypertension
Cli. Res. 26:511, 1978 (Abstr.)

146. Pannani, M., S. Huot, J. Buggy, D. Clough, F. Haddy
Demonstration of a humoral inhibitor of the Na⁺-K⁺ pump
in some models of experimental hypertension
Hypertension 3 (Suppl. II):II96-II101, 1981
147. Pickering, G.
High Blood Pressure
Grune & Stratton, New York, 1968
148. Pickering, G.
Dietary sodium and human hypertension
in: Laragh, J.H., F.R. Bühler, D.W. Seldin (Hrsg.):
Frontiers in Hypertension Research
S. 37-42
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981
149. Postnov, Y., S. Orlov, P. Gulak, A. Shevchenko
Altered permeability of the erythrocyte membrane for sodium
and potassium in spontaneously hypertensive rats
Pflügers Arch. 365:257-263, 1976
150. Postnov, Y.V., S.N. Orlov, A. Shevchenko, A.M. Adler
Altered sodium permeability, calcium binding and
Na-K-ATPase activity in red blood cell membrane in
essential hypertension
Pflügers Arch. 371:263-269, 1977
151. Poston, L., H.H. Gray, A. Crowther, H.C. Dittrich, P.J.
Hilton, M.M. Webb-Peploe, G.A. MacGregor
Cellular sodium concentration and vasoconstrictor state in
hypertension
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S16-S20 (1984)
152. Richards, A.N., B.B. Westfall, P.A. Bott
Renal excretion of inulin, creatinine and xylose in
normal dogs
Proc. Soc. Biol. Med. 32:73-75, 1934
153. Rick, R., A. Dörge, E. v. Arnim, K. Thureau
Electron microprobe analysis of frog skin epithelium:
Evidence for a syncytial sodium transport compartment
J. Membr. Biol. 39:313-331, 1978
154. Rick, R., A. Dörge, A.D.C. MacKnight, A. Leaf, K. Thureau
Electron microprobe analysis of the different epithelial
cells of toad urinary bladder
J. Membr. Biol. 39:257-271, 1978
155. Rick, R.
Analyse des transepithelialen Natriumtransportes mit Hilfe
der Elektronenstrahlmikroanalyse
Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität
München, 1980

156. Rick, R., A. Dörge, K. Thureau
Quantitative analysis of electrolytes in frozen dried
sections
J. Microscopy, 125:239-247, 1982
157. Rodriguez-Sargent, C., J.L. Cangiano, S. Opava-Stitzer
Renal Na⁺-K⁺-ATPase in Okamoto and Dahl hypertensive rats
Hypertension 3 (Suppl. II):II86-II91, 1981
158. Sachs, L.
Statistische Auswertungsmethoden
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1969
159. Schalekamp, M.A.D.H., W.H. Birkenhäger, A.F. Lever
Volume factors, total exchangeable sodium and potassium in
hypertensive disease
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 49-58
McGraw Hill, New York, 1977
160. Schoffeniels, E.
Ionic composition of the arterial wall
Angiologica 6:65-87, 1969
161. Selye, H.
Production of nephrosclerosis by overdosage with
desoxycorticosterone acetate
Can. Med. Assoc. J. 47:515, 1942
162. Selye, H.
Malignant hypertension produced by treatment with
desoxycorticosterone acetate and sodium chloride
Can. Med. Assoc. J. 49:88, 1943
163. Sieberth, H.G.
Different methods for analysis of intraerythrocytic
electrolyte concentration (comparison study)
in: Zunkley, H., H. Losse:
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 4-11
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
164. Skou, J.C.
Enzymatic basis for active transport of Na⁺ and K⁺ across
cell membrane
Physiol. Rev. 45:596-617, 1965
165. Thureau, K.
Nephrology - a look into the future
Kidney Int. 15:1-6, 1979

166. Thureau, K., A. Dörge, J. Mason, F. Beck, R. Rick
Intracellular elemental concentrations in renal
tubular cells. An electron microprobe analysis
Klin. Wochenschr. 57:993-999, 1979
167. Thureau, K.
Hypertonie - Symptom eines gestörten NaCl-Stoffwechsels
euromed 3, 1981
168. Thureau, K., F. Beck, M. Borst, A. Dörge, R. Rick,
G. Bianchi
Intracellular electrolyte composition in various models of
hypertension: An electron microprobe study
J. Cardiovasc. Pharm. 6:S28-S31, 1984
169. Tobian, L., J.T. Binion
Tissue cations and water in arterial hypertension
Circulation 5:754, 1952
170. Tobian, L., J. Binion
Artery wall electrolytes in renal and DCA hypertension
J. Clin. Invest. 33:1407-1414, 1954
171. Tobian, L.
Salt and hypertension
in: Genest, J. (Hrsg.):
Hypertension: Physiopathology and Treatment
S. 423-433
McGraw Hill, New York, 1977
172. Tobian, L.J.
Experimental models for the study of hypertension
in: Davis, J.O., J.H. Laragh, A. Seldwyn (Hrsg.):
Hypertension: Mechanisms, Diagnosis and Treatment
S. 15-24
HP Publishing Co., New York, 1977
173. Überla, K. (Hrsg.)
Biomathematik
ISB, Universität München, 1976
174. Walter, U., A. Distler
Abnormal sodium efflux in erythrocytes of patients with
essential hypertension
Hypertension 4:205-210, 1982
175. Wambach, G., A. Helber, W. Hummerich, W. Kaufmann
Na-K-ATPase activity in erythrocyte ghosts and Na- and K-
concentration in red blood cells of patients with primary
and secondary hypertension
in: Zumkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 158-164
Thieme, Stuttgart, New York, 1980

176. de Wardener, H.E., G.A. MacGregor
Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a substantial rise in arterial pressure: Its possible role in essential hypertension
Kidney Int. 18:1-9, 1980
177. de Wardener, H.E., E.M. Clarkson
The natriuretic hormone: Recent developments
Clin. Sci. 63:415-420, 1982
178. Webb, R.C., D.F. Bohr
Potassium relaxation of vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats
Blood Vessels 16:71-79, 1979
179. Wessels, F., G. Junge-Hülsing, H. Losse
Untersuchungen zur Natriumpermeabilität der Erythrozyten bei Hypertonikern und Normotonikern mit familiärer Hochdruckbelastung
Z. Kreislaufforsch. 56:374-380, 1967
180. Wessels, F., A. Samizadeh
Sodium metabolism of RBC, aorta, heart and skeletal muscle in spontaneously hypertensive rats (Münster strain)
in: Zumkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 111-115
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
181. Wessels, F., H. Zumkley
Sodium metabolism of RBC in hypertensive patients
in: Zumkley, H., H. Losse (Hrsg.):
Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension
S. 59-68
Thieme, Stuttgart, New York, 1980
182. Woods, J.W., R.J. Falk, A.W. Pittman, P.J. Klemmer, B.S. Watson, K. Nambodiri
Increased red-cell sodium-lithium countertransport in normotensive sons of hypertensive patients
New Engl. J. Med. 306:593-595, 1982
183. World Health Organization
Tech. Rep. 168, 1958
184. Zidek, W., H. Vetter, H. Zumkley, H. Losse
Gestörter Natrium- und Calciumaustausch bei Erythrocyten spontan hypertensiver Ratten
Z. Kardiologie. 70:462-465, 1981
185. Zidek, W., H. Losse, K.G. Dorst, H. Zumkley, H. Vetter
Intracellular sodium and calcium in essential hypertension
Klin. Wochenschr. 60:859-862, 1982

186. Zidek, W., H. Losse, J. Grunwald, H. Zumkley, H. Vetter
Intracellular Na⁺ and Ca²⁺ activities in aortic smooth
muscle cells from spontaneously hypertensive rats
Res. Exp. Med. (Berlin) 181:221-224, 1982

I. LEBENSLAUF DES DOKTORANDEN

- | | |
|------------|--|
| 13.01.1958 | geboren als erstes Kind des Dr. med. Hans Georg Borst, M.D., und seiner Frau Hannah Maria, geb. Meister, zu Marburg an der Lahn |
| 1964-1968 | Besuch der evangelischen Bekenntnisschule in München |
| 1968-1977 | Besuch des neusprachlichen Oskar-von-Miller-Gymnasiums (ehem. ARG) in München |
| 24.06.1977 | Abitur |
| 1977/1978 | Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes |
| 1978-1979 | Zwei Semester Philosophiestudium |
| 28.08.1979 | Physikum |
| seit 1981 | Doktorand von Professor Thureau am Physiologischen Institut der Universität München |
| 1982-1983 | Zwei Semester Studium an der Universität Wien |

1983/1984	Praktisches Jahr: Medical Services, Massachusetts General Hospital, Boston; Institut für Anästhesie, Klinikum Großhadern der Universität München; Chirurgische Kliniken A und B, Universitätsspital Zürich
08.05.1984	Staatsexamen
23.05.1984	Approbation als Arzt
zur Zeit	Stabsarzt der Bundesmarine am Bundeswehrkrankenhaus Hamburg, Abteilung Anästhesie

Herrn Professor Thureau habe ich für das hochinteressante Thema dieser Arbeit und seine stete Ermunterung zu danken. Mein besonderer Dank gilt Herrn Doktor Beck für seine Geduld und die Hingabe, mit der er meine Arbeit begleitet hat und ohne die sie nicht möglich gewesen wäre. Die Herren Professoren Dörge, Duhm, Horster und Rick waren mir hilfreiche Gesprächspartner. Herrn Professor Gokel danke ich für die histologische Aufarbeitung der Nieren. Ich danke Fräulein Schramm stellvertretend für all' die anderen Mitarbeiter des Institutes für ihre tatkräftige und freudige Unterstützung. Frau Laue und Fräulein Engelberts gebührt großer Dank für die Reinschrift des Manuskriptes.

